ANNÉE SCOLAIRE
1970-1971
N° d'Ordre : 6

THÈSES

PRÉSENTÉES

A L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'État)

PAR

Philippe DUFOUR

né le 6 Avril 1943 à DAGLAN (Dordogne)

1ère Thèse : **Sur le mécanisme des effets provoqués au niveau du système cholinergique par les médicaments utilisés en neuroleptanalgésie.**

2ème Thèse : **Méthodes expérimentales d'étude des médicaments anti-angineux.**

Présentées et Soutenues publiquement le mercredi 7 Juillet 1971
devant la Commission d'Examen

MM. J. CANELLAS, Professeur . . . . . PRÉSIDENT
R. CASTAGNOU, Professeur . . . . . } EXAMINATEURS
J. ROQUEBERT, Professeur . . . . . }
R. JENSEN, Agrégé . . . . . }
M. SABATHIÉ, Agrégé . . . . . }

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543911_0043

ANNÉE SCOLAIRE
1970 - 1971
N° d'Ordre : 6

THÈSES

PRÉSENTÉES

A L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'État)

PAR

Philippe DUFOUR

né le 6 Avril 1943 à DAGLAN (Dordogne)

1ere Thèse : **Sur le mécanisme des effets provoqués au niveau du système cholinergique par les médicaments utilisés en neuroleptanalgésie.**

2eme Thèse : **Méthodes expérimentales d'étude des médicaments anti-angineux.**

Présentées et Soutenues publiquement le mercredi 7 Juillet 1971
devant la Commission d'Examen

MM.	J. CANELLAS, Professeur	PRÉSIDENT
	R. CASTAGNOU, Professeur	EXAMINATEURS
	J. ROQUEBERT, Professeur	
	R. JENSEN, Agrégé	
	M. SABATHIÉ, Agrégé	

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A TOUS CEUX

DONT L'AFFECTION M'EST CHERE

A Monsieur le Docteur M. SABATHIE

Maître de Conférences agrégé d'Anesthésiologie
Anesthésiologiste des Hôpitaux, Chef de Département

Vous nous avez encouragé en nous rappelant à maintes reprises l'intérêt que présente pour vous ces recherches. Vous nous avez fait profiter de votre grande expérience en anesthésiologie, et vos conseils nous ont toujours été précieux.

Nous vous sommes très reconnaissant d'avoir bien voulu siéger parmi nos juges.

A Monsieur le Docteur R. JENSEN

Maître de Conférences agrégé de Chimie biologique
Biologiste des Hôpitaux
Docteur ès Sciences
Chevalier des Palmes académiques

Vous avez eu la gentillesse de nous faire bénéficier constamment de vos connaissances. Vous nous avez conseillé très efficacement pour la partie biochimique de notre travail, nous consacrant toujours avec amabilité une grande part de votre temps.

Nous tenons à vous exprimer nos plus sincères remerciements et notre profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur J. ROQUEBERT

Professeur sans Chaire de Pharmacodynamie

Tout au long de cette étude, votre grande compétence en physiologie et en pharmacodynamie, votre collaboration active, et vos encouragements nous ont toujours été du plus grand secours.

Votre jugement fut pour nous un guide sûr lors de l'interprétation de nos résultats et de la rédaction de notre travail.

Nous vous remercions très cordialement et nous vous assurons de notre dévouement et de notre sincère gratitude.

A Monsieur le Professeur R. CASTAGNOU

Professeur de Toxicologie et Hygiène appliquée
Pharmacien des Hôpitaux psychiatriques
Membre de l'Académie de Pharmacie
Chevalier de l'Ordre national du Mérite
Officier des Palmes académiques

Au cours de nos études, vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil dans votre laboratoire. La haute valeur de votre enseignement a joué un grand rôle dans notre formation scientifique et a contribué à nous donner le goût de la recherche.

Vous avez bien voulu nous faire le grand honneur de siéger dans notre jury de thèse. Soyez assuré de nos sentiments très respectueux.

A Monsieur le Professeur J. CANELLAS

Professeur de Pharmacodynamie et d'Hydrologie
Licencié ès Sciences
Officier des Palmes académiques

Dès les premiers jours, vous nous avez fait confiance en nous chargeant de mener à bien ce thème de recherche.

Vous vous êtes montré constamment disponible et votre esprit tout à la fois critique et libéral nous a aidé à approcher du but que vous nous aviez fixé.

Aujourd'hui, vous nous marquez votre satisfaction en acceptant de présider notre jury de thèse.

Nous vous sommes sincèrement reconnaissant et nous vous assurons de notre profond attachement.

Notre travail a été grandement facilité par la bonne humeur et l'esprit d'équipe que nous avons toujours trouvés au Laboratoire ; nous tenons à manifester notre gratitude à tous ceux qui nous ont aidé et encouragé pendant ces quatre années.

Il nous est particulièrement agréable de pouvoir remercier :

- Philippe COURTOIS, Maître de Conférences agrégé et Patricia DEMICHEL, Assistante *qui nous ont prêté un concours amical et efficace.*
- Madame PERALES, *qui a toujours pris grand soin de nos animaux.*
- Michèle GUITARD, *qui a eu la tâche de dactylographier notre manuscrit.*
- Les Infirmières de la Salle 14 et les Laborantines du Laboratoire de Biochimie de l'Hôpital Saint André *dont la collaboration nous a été très apportune.*
- Le service central de la Pharmacie.
- Les Laboratoires LE BRUN *qui nous ont procuré le Fentanyl et son solvant.*

SUR LE MECANISME DES EFFETS PROVOQUES AU NIVEAU DU SYSTEME CHOLINERGIQUE PAR LES MEDICAMENTS UTILISES EN NEUROLEPTANALGESIE

S O M M A I R E

INTRODUCTION.

1. PREMIERE PARTIE - GENERALITES

1.1. MEDICAMENTS UTILISES EN NEUROLEPTANALGESIE
1.1.1. Les Analgésiques,
1.1.2. Les Neuroleptiques.

1.2. RAPPELS PHYSIOLOGIQUES DU SYSTEME CHOLINERGIQUE
1.2.1. L'acétylcholine
1.2.2. Cholinestérases, Anticholinestérasiques

1.3. L'ACTION ANALGESIQUE DE LA MORPHINE EST-ELLE EN RELATION AVEC DES MODIFICATIONS DU SYSTEME CHOLINERGIQUE ?

2. DEUXIEME PARTIE - ACTION STIMULANTE DE CES MEDICAMENTS SUR LE SYSTEME CHOLINERGIQUE.

2.1. ACTIVITE "CHOLINERGIQUE" IN VIVO DES ANALGESIQUES
2.1.1. Introduction
2.1.2. Expérimentations.
2.1.2.1. 1ère série d'expérimentations : Modification des effets après injection d'Atropine
2.1.2.2. 2ème série d'expérimentations : Modification des effets après section des pneumogastriques.
2.1.3. Résultats.
2.1.3.1. Résultats de la première série d'expérimentations
2.1.3.2. Résultats de la deuxième série d'expérimentations.
2.1.4. Conclusions.

2.2. ANTAGONISME DEXTROMORAMIDE BRADYKININE.
2.2.1. Introduction
2.2.2. Technique
2.2.3. Résultats
2.2.4. Conclusions

2.3. ACTIVITE ANTICHOLINESTERASIQUE DES NEUROLEPTIQUES ET DES ANALGESIQUES.
2.3.1. Introduction
2.3.2. Technique manométrique
2.3.2.1. Principe de la méthode
2.3.2.2. Technique
2.3.2.3. Mode opératoire
2.3.2.4. Expression des résultats
2.3.2.5. Résultats
2.3.2.5.1. Résultats obtenus avec les analgésiques
2.3.2.5.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques
2.3.3. Technique titrimétrique
2.3.3.1. Principe de la méthode
2.3.3.2. Technique
2.3.3.3. Mode opératoire
2.3.3.4. Expression des résultats
2.3.3.5. Résultats.
2.3.3.5.1. Résultats obtenus avec les analgésiques
2.3.3.5.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques
2.3.3.5.3. Résultats obtenus avec les associations analgésiques neuroleptiques.
2.3.4. Discussion des résultats
2.3.5. Conclusions

3. TROISIEME PARTIE - ACTION INHIBITRICE DE CES MEDICAMENTS SUR LE SYSTEME CHOLINERGIQUE.

3.1. ACTION DES ANALGESIQUES ET NEUROLEPTIQUES SUR LES RECEPTEURS CHOLINERGIQUES DE LA FIBRE MUSCULAIRE LISSE.
3.1.1. Introduction
3.1.2. Essais des analgésiques et neuroleptiques sur l'iléon isolé de cobaye stimulé par des excitants chimiques
3.1.2.1. Techniques opératoires
3.1.2.1.1. Première série d'expérimentations : activité des analgésiques vis-à-vis des contractions provoquées par la nicotine et l'acétylcholine.

3.1.2.1.2. Deuxième série d'expérimentations : action d'un tyrode contenant l'analgésique en solution.
3.1.2.1.3. Troisième série d'expérimentations : pA2 des analgésiques et neuroleptiques vis-à-vis de la nicotine.
3.1.2.2. Résultats
3.1.2.2.1. Résultats de la première série d'expérimentations
3.1.2.2.2. Résultats de la deuxième série d'expérimentations
3.1.2.2.3. Résultats de la troisième série d'expérimentations
3.1.2.3. Conclusions.
3.1.3. Essais des analgésiques et neuroleptiques sur l'iléon isolé de cobaye stimulé électriquement.
3.1.3.1. Introduction
3.1.3.2. Matériel et méthode
3.1.3.3. Calculs.
3.1.3.4. Résultats.
3.1.3.4.1. Résultats obtenus avec les analgésiques
3.1.3.4.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques
3.1.3.5.Discussion des résultats.
3.1.3.6. Conclusions

3.2. ACTION DES ANALGESIQUES ET NEUROLEPTIQUES SUR LES RECEPTEURS CHOLINERGIQUES DE LA FIBRE MUSCULAIRE STRIEE
3.2.1. Introduction
3.2.2. Essais sur le rectus abdominis de grenouille
3.2.2.1. Principe et méthode
3.2.2.2. Résultats
3.2.2.2.1. Résultats obtenus avec les analgésiques
3.2.2.2.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques
3.2.2.3. Conclusions
3.2.3. Essais sur l'hémidiaphragme de rat
3.2.3.1. Introduction
3.2.3.2. Matériel et méthode
3.2.3.3. Résultats

3.2.3.3.1. Résultats obtenus avec les analgésiques
3.2.3.3.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques
3.2.3.4. Discussion des résultats
3.2.3.4.1. Cas des analgésiques
3.2.3.4.2. Cas des neuroleptiques
3.2.3.5. Conclusions.

4. QUATRIEME PARTIE - DISCUSSION ET CONCLUSION.

4.1. DISCUSSION DE L'ENSEMBLE DES RESULTATS.

4.2. CONCLUSIONS GENERALES.

---°---

I N T R O D U C T I O N

Depuis une dizaine d'années une partie des activités de recherche du Laboratoire de Pharmacodynamie est consacrée à l'étude des effets secondaires des médicaments utilisés en neuroleptanalgésie, et plus particulièrement de trois analgésiques : Dextromoramide, Phénopéridine, Fentanyl.

Un certain nombre d'effets secondaires observés chez l'animal semble provoqué par la mise en jeu de mécanismes cholinergiques.

Particulièrement nets au niveau de l'intestin les résultats sont cependant en apparence opposés suivant que l'on considère l'intestin "in situ", ou l'intestin isolé. En effet, alors qu'"in vivo", les analgésiques provoquent une stimulation intense présentant les caractères d'un phénomène cholinergique, "in vitro", ils sont à l'origine d'un relâchement et s'opposent même aux effets de l'acétylcholine.

C'est ainsi que nous avons été amené à reprendre en détail l'étude de l'action de ces analgésiques au niveau des différentes structures placées sous la dépendance des mécanismes cholinergiques.

Après avoir rappelé quelques notions sur les analgésiques, le système cholinergique et les rapports entre analgésie et mécanismes cholinergiques, il est apparu commode d'exposer d'abord les résultats de l'étude des divers mécanismes qui sont à l'origine des effets d'excitation, puis les conclusions des recherches concernant les

phénomènes d'inhibition. Une dernière partie présentée sous la forme d'une discussion permet d'envisager une explication des phénomènes cholinergiques, à la faveur des éléments dégagés expérimentalement.

Qu'il s'agisse d'effets excitants ou d'effets inhibiteurs, nous avons dans tous les cas étudié en même temps et de la même manière les effets de la morphine considérée comme substance de référence des analgésiques centraux.

L'étude des neuroleptiques, et éventuellement de leurs associations avec les analgésiques n'a pas été effectuée systématiquement, mais seulement dans quelques cas. En effet, si les précédents travaux réalisés dans le cadre du Laboratoire de Pharmacodynamie ont bien montré sous l'action des neuroleptiques une modification de la dépression respiratoire provoquée par les analgésiques, ils n'ont au contraire pas permis de mettre en évidence une activité vis-à-vis des effets cholinergiques.

---°---

PREMIERE PARTIE

GENERALITES

1.1. MEDICAMENTS UTILISES EN NEUROLEPTANALGESIE

1.1.1. LES ANALGESIQUES.

Les analgésiques ont de tout temps suscité le plus grand intérêt : les égyptiens en connaissaient vraisemblablement l'usage car le papyrus d'Ebers daté de 1652 av. Jésus-Christ, contient des formules à base d'opium : ils n'étaient pas inconnus des Grecs, puisque dans l'Odyssée, il est dit qu'Hélène dissolvait dans du vin une drogue "qui endormait tout mal et toute colère et apportait l'oubli de toutes misères". Des descriptions très précises de l'opium, de sa préparation, de sa formulation, sont fournies dès le IIIe siècle avant Jésus-Christ par de nombreux auteurs. (JACOB 1954).

Au début du XIXe siècle, la morphine est isolée par SERTURNER (1806) les recherches expérimentales et les observations cliniques s'amoncellent.

A partir de 1938, de nombreux dérivés d'hémisynthèse de la Morphine ou de synthèse totale sont préparés le plus souvent en vue de tenter de dissocier activité analgésique et pouvoir toxicomanogène.

Depuis, nous disposons de substances d'une puissance analgésique considérable. Aussi, est-il tentant de les utiliser non seulement sur le malade qui souffre, mais aussi en période opératoire, ainsi que Claude BERNARD l'avait déjà imaginé, afin de réduire la dose d'anesthésiques généraux. Ainsi se trouve posé le problème de la place de l'analgésie au sein de l'anesthésie.

L'anesthésie est constituée, classiquement de quatre éléments : la perte de conscience (obtenue par les barbituriques, les anesthésiques volatils, etc...), l'analgésie (obtenue par les morphinomimétiques ou les anesthésiques volatils), le relâchement musculaire (obtenu par les myorésolutifs ou par une anesthésie générale profonde), la stabilité neuro-végétative.

Ces 4 états peuvent être réalisés par un seul agent (éther, halothane etc...) mais au prix d'une certaine intoxication et d'effets secondaires fâcheux. La tendance actuelle est donc d'utiliser des associations de drogues, peu toxiques, permettant à l'anesthésiste d'insister sur l'une ou l'autre des 4 composantes citées précédemment .

C'est ainsi que plusieurs formules de cocktails anesthésiques dont l'origine française est incontestable ont été préconisés : narcoanalgésie, ataralgésie, cocktails lytiques, neuroleptanalgésie.

Cette dernière technique introduite par DE CASTRO et MUNDELEER (1959) semble largement adoptée car elle convient à toutes les interventions et à tous les âges. Elle utilise au lieu et place du barbiturique, drogue à action trop électivement hypnotique, la combinaison d'un neuroleptique et d'un analgésique puissant.

Quel que soit le neuroleptique qui intervient dans l'association

Halopéridol	KAPFERER-MUNDELEER-DE CASTRO
Déhydrobenzpéridol	DE CASTRO-VOURC'H.-DELIGNE
Benzopéridol	DELIGNE
Alimémazine	HUGUENARD-DE CASTRO
Levomépromazine	DELEUZE-CHOPIN-DU CAILAR
Acépromazine	DU CAILAR-VIGNON

Ce sont toujours les analgésiques les plus puissants qui ont été utilisés :

- le Dextromoramide,
- la Phénopéridine,
- le Fentanyl.

Ces trois produits ayant été synthétisés par le belge JANSSEN.

L'action analgésique est la propriété dominante de ces produits. Ils agiraient en élevant le seuil de sensibilité à la douleur par action hypothalamique et en créant une indifférence à la perception douloureuse par action corticale. Leur puissance analgésique est grande. Le Dextromoramide est 15 fois plus puissant que la Morphine, la Phénopéridine 20 à 30 fois et le Fentanyl 80 à 100 fois (SABATHIE 1964).

La durée d'action est inversement proportionnelle à leur puissance, l'analgésie apparaît rapidement.

Malheureusement, la fréquence et l'intensité des effets secondaires de ces produits en général de même nature que ceux de la Morphine sont d'autant plus grandes que l'action analgésique est elle-même plus forte.

Les plus puissants des analgésiques centraux provoquent en particulier l'apparition d'une dépression respiratoire très intense. A côté de cette propriété indésirable, d'autres effets secondaires tels qu'une éventuelle dépression cardiovasculaire, une action histamino-libératrice, l'apparition d'accidents épileptiques, de vomissements, nausées, de troubles à caractère cholinomimétique, amènent à rapporter pour chaque produit son action analgésique au développement de ses effets secondaires.

Nous avons adopté les graphiques proposés par VOURC'H et coll. (1971) pour exprimer la physionomie des principaux analgésiques utilisés en neuroleptanalgésie (voir légende).

Nous avons en outre, représenté celui de la Morphine, celle-ci servant de substance de référence des analgésiques centraux, ainsi qu'une brève monographie de 2 neuroleptiques habituellement utilisés en association avec ces analgésiques :

L'Alimémazine et le Déhydrobenzpéridol.

LÉGENDE POUR L'INTERPRÉTATION DES GRAPHIQUES EXPRIMANT LA PHYSIONOMIE DES PRINCIPAUX ANALGÉSIQUES UTILISÉS EN ANESTHÉSIE ET RÉANIMATION.

— Les tableaux synoptiques établis sur le modèle de la figure, représentent une condensation graphique de leurs principaux effets aux doses moyennes.

— Les propriétés de chaque produit sont figurés en regard des lettres correspondantes (cf. légende).

— A droite figurent les propriétés utiles, alors que le rectangle de gauche est consacré aux effets secondaires indésirables des principales substances.

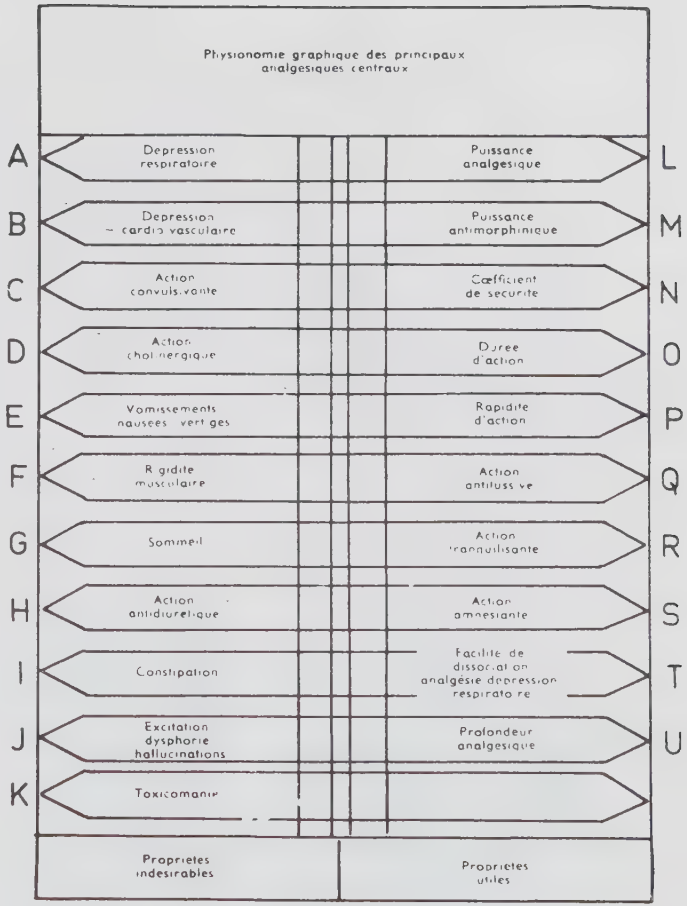
— L'ordre de grandeur ou l'intensité de ces propriétés est proportionnelle à la longueur de la flèche correspondante.
Six graduations de 0 à 6 sont prévues à cette fin : la graduation 3 correspond à l'action correspondante de la substance de référence (Morphine ou N-allyl-Nor-Morphine).

— Un produit dont les flèches dépassent la 3e colonne de droite a des propriétés supérieures à celles de la morphine ou de la nalorphine.

— Tous les graphiques (sauf mention spéciale) représentent les actions des doses équi-analgésiques des différents produits.

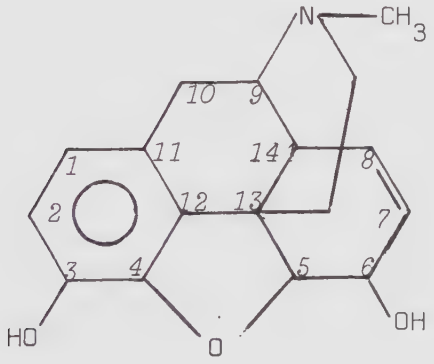
Les graphiques ainsi obtenus se proposent de procurer une rapide vue d'ensemble comparative du profil pharmacologique des principaux morphiniques et antimorphiniques utilisés chez l'Homme. Ils ne doivent donc pas être interprétés comme des résumés synoptiques de résultats expérimentaux quantifiés.

d'aprés VIARS (VOURC'H 1971)



a) Morphine :

Premier alcaloïde isolé du pavot en 1806 par SERTURNER, la substance fut appelée par son inventeur Morphine en hommage à la déesse des rêves. Elle possède une formule pentacyclique dans laquelle on retrouve simultanément les structures phénantréniques et isoquinoleïques. C'est une base forte qui comporte un cycle benzénique porteur d'une fonction phénol, une fonction alcool secondaire, une double liaison en 7-8, un pont oxydique et une fonction amine tertiaire.



Elle possède de puissantes propriétés analgésiques et présente de puissants effets toxicomanogènes.

Ses principales propriétés pharmacologiques sont résumées dans la Figure 1.

b) Dextromoramide :

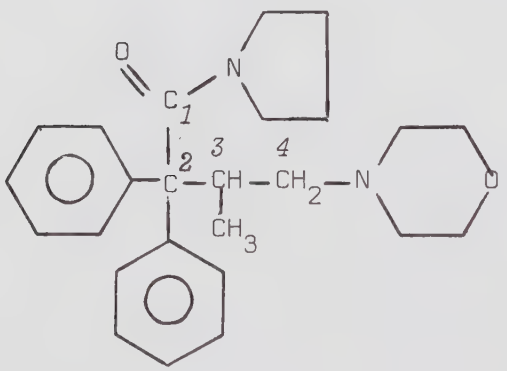
La découverte du Dextromoramide (*) fut publiée en 1956 par JANSSEN qui lui a attribué le nom de Palfium en mémoire d'un célèbre médecin belge du XVIIIe siècle : PALFYN.

(*) *Dextromoramide - Palfium - Pyrrolamidol - R. 875.*

C'est le Diphényl 2-2' méthyl 3, morpholino - 4 butyryl pyrrolidine qui comme tous les analgésiques centraux possède un certain nombre de points communs, à savoir :

- un atome d'azote tertiaire,
- un atome de carbone central dont aucune valence ne fixe d'hydrogène,
- un groupe phényl ou isostérique du phényl qui est lié à l'atome de carbone central,
- un carbone central relié à l'azote par une chaîne comportant 2 carbones, ce qui lui donne un maximum d'activité.

Sa structure chimique est la suivante :

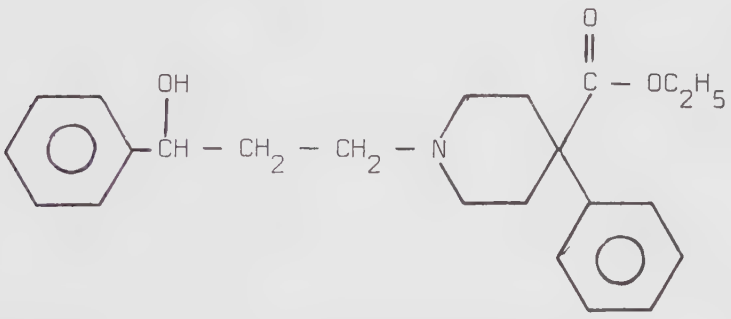


C'est un puissant analgésique, supérieur à la Morphine (ASSAF 1957). Il se comporte par ailleurs comme un morphinomimétique ainsi que le montrent ses principales propriétés pharmacologiques (Figure 2).

c) Phénopéridine :

La phénopéridine ou R. 1406 synthétisée également par JANSSEN(1960) dérive directement de la Péthidine. Au radical méthyl a été substitué une chaîne terminée par un cycle benzénique.

C'est le chlorhydrate de l'ester éthylique de l'acide (hydroxy-3 phényl - 3 propyl) - 1 phényl - 4 pipéridine carboxylique -4.

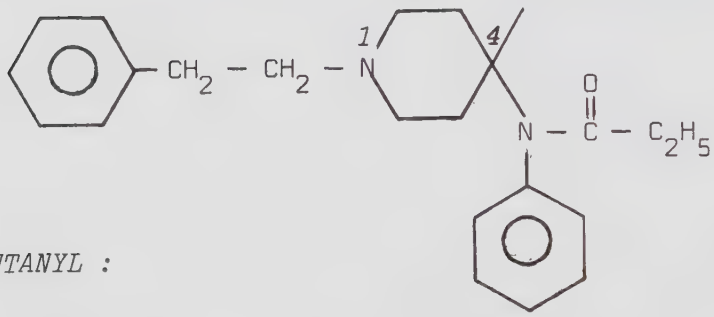


Ce produit est caractérisé par sa puissante action analgésique. Il est de quatorze à soixante quinze fois plus puissant que la Morphine suivant l'espèce et le protocole expérimental utilisés. Son action est plus brève que celle de la morphine, mais plus longue que celle du dextromoramide.

En plus de son action analgésique, la phénopéridine exerce toutes les actions des morphinomimétiques, comme l'indique la Figure 3.

d) Fentanyl :

Synthétisé par JANSSEN (1962) le fentanyl est un dérivé de la norpéthidine, possédant une parenté assez marquée du point de vue chimique, avec la péthidine, le radical aniline étant placé en position 4 sur le noyau pipéridinique de la péthidine.



FENTANYL :

N-(phénéthyl-1 pipéridinyl-4) propianilide

L'expérimentation animale a montré que :

- le Fentanyl est le plus puissant analgésique connu actuellement en ce qui concerne l'activité de pointe,
- son action analgésique est la plus rapide à se manifester,
- sa durée d'action est la plus courte parmi tous les morphiniques de synthèse (JANSSEN 1963).

Si l'on compare l'activité analgésique des 3 composés étudiés (SABATHIE 1964) à celle de la morphine prise comme étalon, le rapport de leurs puissances analgésiques est le suivant :

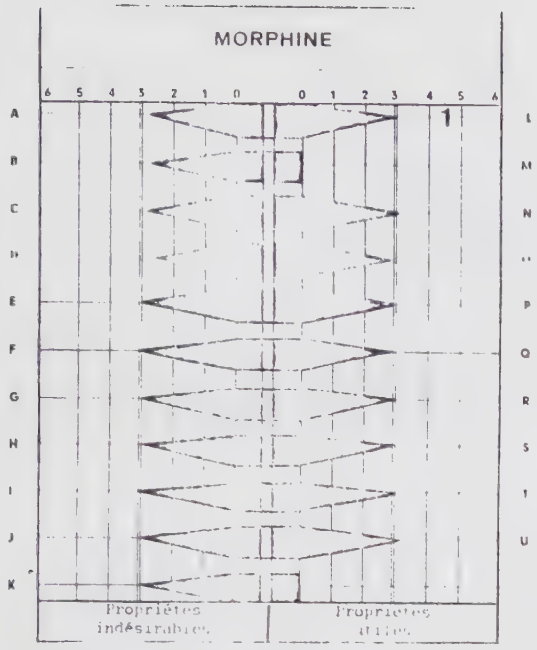


FIG.1_ Propriétés principales de la Morphine

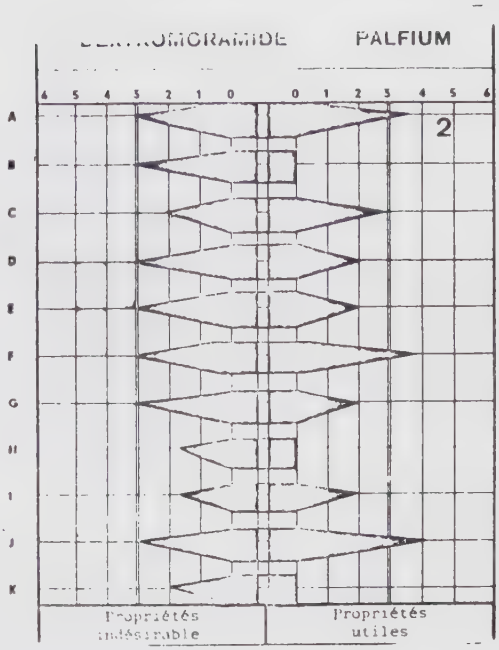


FIG.2_ Propriétés principales du Dextromoramide

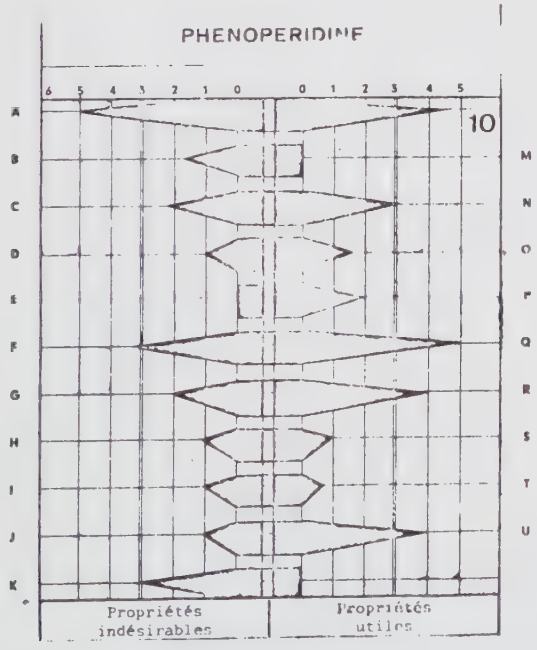


FIG.3_ Propriétés principales de la Phénopéridine

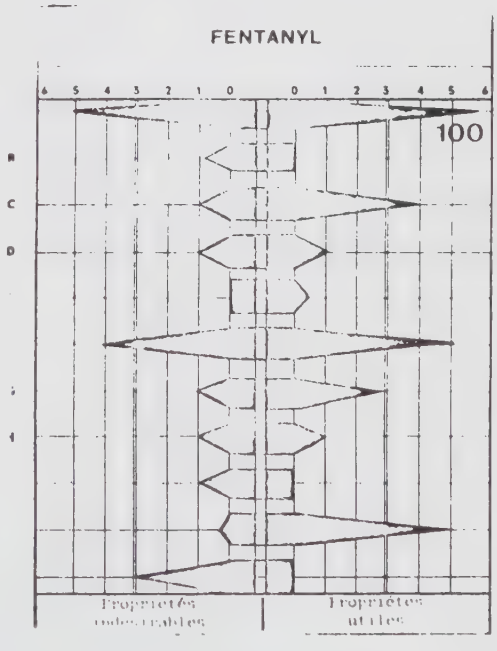


FIG.4_ Propriétés principales du Fentanyl

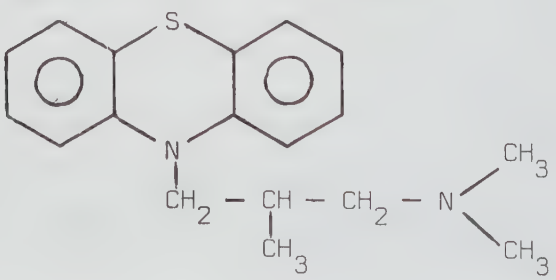
Rapport des puissances analgésiques	
Morphine	1
Dextromoramide	15
Phénopéridine	20 à 30
Fentanyl	80 à 100

Par ailleurs, le Fentanyl est responsable d'une dépression respiratoire très importante (DOWNES et coll. 1967) et entraîne l'apparition fréquente d'hypertonie musculaire (VOURC'H 1966). Mis à part ces deux effets, il est parmi les substances morphinomimétiques celle qui possède les propriétés indésirables les plus faibles (GRELL et coll. 1970) comme le montre la Figure 4.

1.1.2. LES NEUROLEPTIQUES :

a) Alimémazine :

L'alimémazine (*) est le chlorydrate de (méthyl 2' diméthylamino 3' propyl 1') 10 phénothiazine.



(*) *Alimémazine - Théralène - 6.549 RP.*

Ce dérivé a été étudié par COURVOISIER S., DUCROT A., FOURNIE J. et JULOU L. (1958) qui ont mis en évidence ses propriétés intéressantes par leur gamme, l'absence des propriétés anti-adrénaline puissantes de la chlorpromazine, et l'action sensiblement égale sur les systèmes ortho et parasympathiques, respectant ainsi l'équilibre du système nerveux autonome.

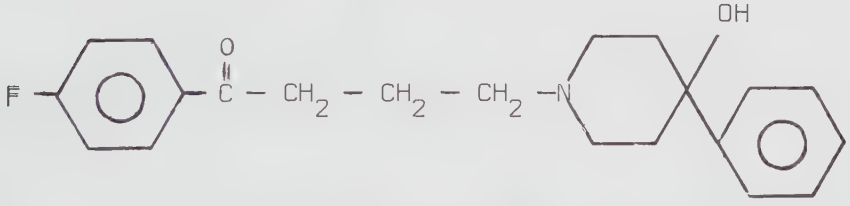
Légèrement moins actif que la chlorpromazine, il engendre cependant une dépression centrale intense qui se traduit par :

- une hypotonie générale
- une hypo excitabilité,
- un état de torpeur profonde.

Cette aptitude à provoquer un état de désintéressement la fait utiliser en Neuroleptanalgésie.

b) Déhydrobenzpéridol :

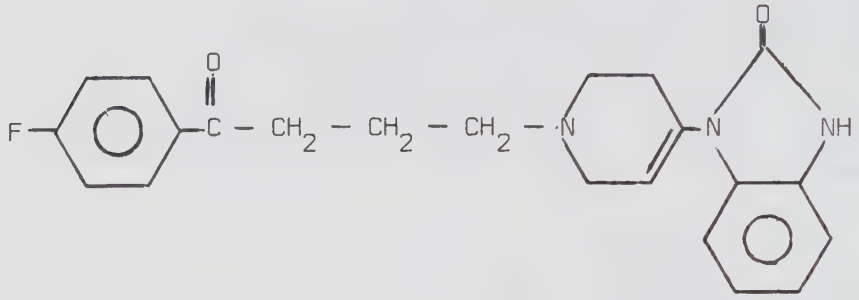
C'est au cours des recherches sur les pipéridines substituées qu'ont été mises en évidence par JANSSEN P. à Beerse en Belgique, les propriétés particulières d'amines tertiaires appartenant au groupe chimique des butyrophénones dont le prototype est l'Halopéridol 4 -(4 hydroxy - 4' chloro - 4 phényl-pipéridino) 4' fluorobutyrophénone.



Récemment JANSSEN (1963) fit la synthèse d'un dérivé : le déhydrobenzpéridol (*) 1 - (1 (4p.fluorophényl)

(*) *Déhydrobenzpéridol - R. 4749 - Dropéridol.*

4 oxobutyl) 1-2-3-6) tétrahydro - 4 pyridyl) 2 benzimidazolinone, dont voici la formule développée :



Sa molécule renferme un atome de fluor comme celle de l'halopéridol, mais en diffère notablement par le remplacement du groupe pipéridine (héxahydropyridine) par un radical tétrahydropyridine, substitué lui-même par un reste oxobenzimidazoline, au lieu de l'être par un phényl substitué et par un hydroxyle comme dans l'Halopéridol.

Chez l'animal, le déhydrobenzpéridol manifeste une action dépressive centrale qui varie suivant le test utilisé, mais qui dans tous les cas est largement supérieure à celle développée par la chlorpromazine (10 à 100 fois).

Cette propriété le fait employer fréquemment en neurolaptanalgésie pour modifier le comportement du sujet vis-à-vis de la douleur, sans entraîner d'hypnose (MORRISON 1970).

L'examen des graphiques 1, 2, 3, 4, montre que les analgésiques sont à l'origine de phénomènes de type cholinergique très importants, à tel point que dans le cas de la Morphine, certains auteurs ont même attribué en partie tout au moins son activité analgésique à ses activités acétylcholinomimétiques directes ou indirectes.

Afin de mieux comprendre ces hypothèses sur lesquelles nous reviendrons, il nous a semblé nécessaire de rappeler quelques éléments de la physiologie du système cholinergique.

---°---

1.2. RAPPELS PHYSIOLOGIQUES DU SYSTEME CHOLINERGIQUE

Le système cholinergique met en jeu le transmetteur chimique le mieux connu et le plus important de l'organisme animal (CHEYMOL 1962) :

1.2.1. L'ACETYLCHOLINE.

Selon la théorie neurohumorale acceptée par la majorité des physiologistes, l'acétylcholine est le médiateur chimique essentiel impliqué dans la transmission nerveuse.

Elle assure la transmission de l'influx nerveux au niveau des terminaisons parasympathiques postganglionnaires, des ganglions sympathiques et para-sympathiques, de la plaque motrice et même de certaines synapses du système nerveux central selon le schéma général suivant : (SCHMITT, 1970).

α - Libération par l'influx nerveux de l'acéthylcholine contenue dans des vésicules présynaptiques,

β - Fixation du médiateur sur les récepteurs de la membrane postsynaptique, ce qui entraîne l'apparition d'un potentiel postsynaptique excitateur (KAYSER 1970) appelé aussi potentiel de plaque motrice à la jonction neuromusculaire. C'est à ce niveau que l'acétylcholine est détruite par les cholinestérases.

γ - Lorsque ce potentiel atteint une certaine valeur, il engendre le potentiel d'action qui se propage dans l'élément postsynaptique.

La mise en jeu de l'acéthylcholine entraînera au niveau du système nerveux végétatif des effets dits parasympathomimétiques, et au niveau du muscle strié une contraction.

Les principaux effets parasympathiques sont : bradycardie, vasodilatation et hypotension, contraction des muscles lisses et des sphincters, augmentation du tonus et du péristaltisme du tractus gastrointestinal, bronchostriction, myosis et accroissement de la sécrétion salivaire.

Certaines substances vont perturber les mécanismes placés sous la dépendance de l'acétylcholine :

- les anticholinestérasiques qui potentialisent les actions de l'acétylcholine,
- les parasympatholytiques et curarimimétiques qui agissent au niveau des récepteurs de la membrane postsynaptique du système nerveux autonome dans le premier cas et de la jonction neuromusculaire dans le deuxième cas.

1.2.2. CHOLINESTERASES - ANTICHOLINESTERASIQUES.

es substances anticholinestérasiques sont des inhibiteurs des cholinestérases, enzymes responsables de l'hydrolyse de l'acétylcholine. Elles entraînent l'accumulation de l'acétylcholine libérée par les terminaisons nerveuses et provoquent des symptômes muscariniques et nicotiniques.

es cholinestérases, enzymes hydrolysant l'acétylcholine en acide acétique et choline furent découvertes entre 1926 et 1932 par LOEWI, NAVRATIL (1926) et STEDMAN et coll. (1932).

Elles se différencient selon les substrats sur lesquels elles peuvent agir, les tissus qui les fournissent, et les substances susceptibles de les inhiber (DELGA-FAULHOUX 1969).

Il est classique de les diviser en :

- pseudo cholinestérases : présentes dans les sérums, le foie, la muqueuse intestinale, le pancréas. Elles agissent sur l'acétylcholine, la butyrylcholine et la propionylcholine,
- acétylcholinestérases ou cholinestérases vraies : on les trouve en abondance dans le tissu nerveux, la médullo-surrénale, la plaque motrice des muscles striés et dans les érythrocytes (CHARY et coll. 1961).

Les plus rapides dans l'hydrolyse de l'acétylcholine, elles sont aussi les plus intéressantes dans le métabolisme physiologique de ce médiateur. Elles interviennent dans le processus de la transmission de l'influx nerveux. En hydrolysant presque instantanément l'acétylcholine, elles permettent à la synapse de transmettre un nouvel influx. L'acétylcholinestérase aurait donc pour effet de limiter dans le temps et dans l'espace l'action de l'acétylcholine libérée, et d'être une source immédiate de choline pour la resynthèse de l'acétylcholine.

De nombreuses méthodes ont été proposées pour le dosage des cholinestérases dans les milieux biologiques. Elles reposent sur la réaction classique d'hydrolyse de l'acétylcholine :

$$\text{Acétylcholine} \xrightarrow[\text{Cholinestérase}]{+\ HOH} \text{Acide acétique} + \text{Choline}$$

La quantité d'acétylcholine hydrolysée peut être mesurée soit par estimation de la quantité d'acide formé dans l'hydrolyse, soit par soustraction de l'acétylcholine non détruite au bout d'un temps donné.

Dans le premier cas, l'opération se ramène à mesurer la production d'acide :

- par les techniques de WARBURG (AMMON 1933) ou de VAN SLYKE (STRAUSS et GOLDSTEIN 1943),

- par la méthode électro pH métrique de (MICHEL 1949),

- par titrimétrie en présence d'indicateur coloré (VINCENT-SEGONZAC 1942), ou à l'aide de pH mètres (GLICK 1938) de potentiomètres (DELAUNOIS-CASIER 1948) et même de titrateurs automatiques (TAMELIN et STRINDBERG 1952).

Ces dernières méthodes nécessitant l'utilisation d'appareillages adaptés ont l'avantage d'être les plus précises.

Dans le second cas, l'opération met à profit la réaction que donne l'acéthylcholine traitée par l'hydroxylamine et le perchlorure de fer (méthode colorimétrique d'HESTRIN (1949) modifiée par TRUHAUT, VERNIN (1964) pour en faire une technique de routine).

Ces différentes méthodes peuvent permettre la détermination de l'activité in vitro de diverses substances vis-à-vis des cholinestérases.

---°---

1.3. L'ACTION ANALGESIQUE DE LA MORPHINE EST-ELLE EN RELATION AVEC DES MODIFICATIONS DU SYSTEME CHOLINERGIQUE ?

Cette hypothèse a toujours été présentée prudemment, en particulier par BERNHEIM et BERNHEIM (1936), SLAUGHTER et MUNSELL (1940) et par FROMMEL (1951).

D'une façon générale, 3 arguments essentiels ont été présentés en faveur d'un mécanisme cholinergique (MARTIN 1963). Ce sont, dans l'ordre où nous les discuterons :

- La dépression de l'analgésie morphinique par l'atropine, antagoniste classique de l'Acétylcholine.

- Le pouvoir anticholinestérasique de la morphine qui aurait pour conséquence l'accumulation d'acétylcholine à différents niveaux.

- La synergie prostigmine-Morphine. La prostigmine étant considérée comme un sensibilisant des phénomènes ou intervient l'acétylcholine.

a) L'atropine et un certain nombre de parasympatholytiques s'opposent de façon plus ou moins nette à l'action analgésique de la Morphine (SLAUGHTER 1942) - (CHRISTENSEN, 1948).

Cet antagonisme traduirait en effet l'inhibition d'un processus cholinergique dans la mesure où l'action cholinolytique de l'atropine aux faibles doses utilisées est-elle même spécifique, ce qui est assez souvent admis.

Il convient cependant de souligner que toutes les actions de la morphine ne sont pas déprimées par l'atropine, et en particulier l'excitation psychomotrice qu'elle provoque fréquemment est peu touchée, et quelquefois même augmentée. Par ailleurs, l'action centrale de l'atropine à doses modérées soulève un certain nombre d'arguments qui commandent une attitude très réservée avant de conclure à la localisation centrale de l'intéraction de ces deux produits.

b) Les propriétés anticholinestérasiques in vitro de la morphine ont été décrites tout d'abord par BERNHEIM et BERNHEIM (1936). Ces propriétés ont été par la suite souvent confirmées (KAHANE-LEVY,1936) - (WRIGHT SABINE,1943) - BRINDLEY (1944). Toutefois de nombreux auteurs ont attiré l'attention sur la faible intensité de ce pouvoir anticholinestérasique in vitro (AUGUSTINSSON 1950).

SLAUGHTER et LACKEY (1940) lui ont trouvé une action in vivo pour des doses inefficaces in vitro ; alors que les recherches de LAVIKAINEN - MATTILA (1959) et SHAUMANN (1959) n'ont pas abouti dans ce cas, et que JOHANNESSON (1962) trouve qu'elle inhibe l'activité cholinestérasique du cerveau de rat in vivo que pour des doses toxiques de l'ordre de 700 mg/kg en I.P..

D'autres morphiniques partagent cette action, et en particulier la codeïne, le dilaudid, la désoxymorphine, etc... (GARRELOU,1930).

Les cholinestérases plasmatiques sont moins sensibles aux analgésiques que les cholinestérases cérébrales.

L'inhibition enzymatique des analgésiques est compétitive et reversible, ce qui peut fausser les résultats expérimentaux (STRAUSS-GOLDSTEIN,1942),(GOLDSTEIN,1951) au point que l'on peut difficilement évaluer l'inhibition réellement réalisée.

Tous ces résultats ont évidemment conduit certains auteurs à penser que l'action des analgésiques pourrait se manifester par un mécanisme cérébral de type cholinergique indirect (SLAUGHTER,1953). Certains même ont montré l'existence d'un parallèlisme entre activité analgésique et activité anticholinestérasique, d'autres prouvent qu'il n'y a aucun rapport, (YOUNG et coll.1955).

Toutefois, KNOLL et ses collaborateurs (1951) ont pu montrer que l'action anticholinestérasique des analgésiques au niveau du cerveau est inférieure à celle qu'exerce la prostigmine à des doses où cette substance n'exerce aucune action analgésique.

Aussi, il semble actuellement que le fait seul de l'existence d'une activité anticholinestérasique de la morphine peut et doit être retenu, mais que son interprétation est assez inaccessible.

c) De nombreux auteurs, pour étayer l'hypothèse d'une action anticholinestérasique de la morphine comme support de l'activité analgésique se sont appuyés sur une preuve indirecte qui semblait leur être fournie par la potentialisation qu'exerce la prostigmine à l'égard de la morphine.

En effet, GARRELOU et ses collaborateurs, dès 1930 rapportaient l'augmentation de l'action analgésique de la morphine par l'ésérine chez l'homme. Par la suite, ces travaux ont été confirmés par de très nombreux auteurs grâce aux associations de différents analgésiques et de divers anticholinestérasiques (SLAUGHTER et coll. 1942), (ABAZA-GREGOIRE,1952), (FOLDMARK et coll. 1945).

Cet argument ajouté au fait que cette potentialisation est inhibée par l'atropine (SLAUGHTER et GROSS 1939) renforce l'hypothèse d'un mécanisme cholinergique des morphiniques pour expliquer au moins une partie de leurs actions centrales, d'autant plus que des substances telles que la pilocarpine (FROMMEL et coll. 1947) la choline (KOMLOS 1950), le manganochlorure d'acétycholine (FROMMEL 1951) qui, bien que peu ou pas anticholinestérasiques, exercent des actions puissamment acétylcholinomimétiques et potentialisent aussi l'action analgésique des morphinomimétiques.

Il pouvait à la suite de ces travaux paraître raisonnable de penser qu'une partie, ou la totalité de l'action analgésique de la morphine était rattachable à un mécanisme cholinergique.

Cependant de puissants anticholinestérasiques tels que le T.E.P.P. (*) (RIKER,1953) ou le D.F.P. (*) (LECANNELIER et coll. 1953) ne modifient pas l'action des analgésiques. Par ailleurs, la prostigmine et l'ésérine ont sur les réflexes médullaires des actions diamétralement opposées à celles de la Morphine ; le levallorphan (YOUNG et coll. 1955) qui a une puissante action anticholinestérasique supérieure à celle de la morphine n'a aucune action analgésique.

De la sorte DE JONGH (1954) et DUNDEE et ses collaborateurs (1961) ont conclu en affirmant qu'il y avait très peu de chances pour que les anticholinestérasiques augmentent l'action de la morphine par l'intermédiaire de leur action anticholinestérasique.

Loin d'invoquer un mécanisme de type cholinergique, certains travaux, à l'opposé des précédents ont montré (DELALANDE,1955) que la morphine à certaines concentrations inhibe complètement la synthèse de l'acétylcholine dans les cellules cérébrales. Certains auteurs comparent même cette action antiacétylcholine à l'action analgésique (BERGEL, 1948) en se basant sur le fait que l'atropine et de nombreux spasmolytiques sont doués de propriétés analgésiques plus ou moins développées. Il en serait de même pour divers antagonistes de l'acéthylcholine (BURN,1948).

PATON, (1957), COX et WEINSTOCK (1966) ont même constaté l'existence d'un rapport étroit entre le pouvoir des morphinomimétiques d'inhiber la libération d'acétylcholine et leur action analgésique.

Certains rapprochements ayant été faits entre la structure chimique de la morphine ou d'analgésiques de synthèse et celle de poisons du système nerveux autonome, ont permis a PFEIFFER, SANTOS MARTINEZ et SHERROD (1948) d'écrire que les groupements actifs des analgésiques puissants sont voisins de ceux caractérisant les séries de composés acétylcholinomimétiques et Atropiniques.

(*) *T.E.P.P. , Tétraéthyl Pyrophosphate*

(*) *D.F.P. , Diisopropyl fluorophosphate.*

Pour SCHUELER, GROSS et HOLLAND (1949) enfin, l'activité analgésique serait liée à la présence simultanée, dans la molécule d'une structure sympathomimétique et d'une structure parasympathomimétique réunies, en général par le même atome d'azote.

On le voit, les représentations pharmacologiques ou structurales qui ont été faites de relations existant entre l'analgésie morphinique et les phénomènes cholinergiques sont encore confuses et souvent contradictoires. On pourrait croire que la morphine est à la fois cholinergique cholinolytique et même adrénergique (HOUSSAY et coll. 1928) et adrénolytique (VOGT 1954), ceci d'ailleurs n'est pas plus incohérent que la conclusion, encore valable de Claude BERNARD, selon laquelle "la morphine est à la fois un stimulant et un dépresseur du système nerveux central", si l'on tient compte qu'une stimulation peut résulter tout aussi bien d'une stimulation réelle que d'une inhibition d'un circuit inhibiteur, et qu'une inhibition peut être le reflet d'une inhibition réelle ou d'une stimulation d'un circuit inhibiteur.

En fait, il ressort de ces différentes recherches, qu'il serait hardi de conclure que l'action analgésique des morphinomimétiques est le fait d'un mécanisme neurophysiologique. Aussi, avons nous essayé, sans avoir eu la prétention de déterminer un quelconque mécanisme d'action analgésique, de chercher qu'elle serait l'action du dextromoramide, de la phénopéridine et du fentanyl au niveau du système cholinergique.

---°---

DEUXIEME PARTIE

ACTION STIMULANTE DE CES MEDICAMENTS SUR LE SYSTEME CHOLINERGIQUE

2.1. ACTIVITE "CHOLINERGIQUE" IN VIVO DES ANALGESIQUES :

2.1.1. INTRODUCTION.

De nombreux travaux réalisés dans notre laboratoire (CANELLAS, LE BARS, ROQUEBERT, SABATHIE, 1963, ROQUEBERT et coll. 1964, 1966 b. 1967, DUMARTIN 1967) ont permis d'avancer qu'un des principaux mécanismes d'action de ces substances morphinomimétiques était de type cholinergique.

Les faits expérimentaux qui ont permis de suggérer cette solution sont les suivants :

- Le dextromoramide, le phénopéridine et le fentanyl provoquent chez le chat et le chien une hypotension et une bradycardie qui sont toutes deux supprimées par injection d'atropine.

- Les effets hypotenseurs et bradycardisants produits par excitation électrique du bout périphérique du pneumogastrique sont augmentés par le dextromoramide et le phénopéridine, le fentanyl les laissant inchangés.

- Au niveau de la musculature bronchique du cobaye, ces analgésiques manifestent une activité constrictrice, importante avec le dextromoramide, et qui cède à l'atropine.

- Ces 3 substances entraînent un spasme du sphincter d'Oddi qui est diminué par l'atropine.

- Au niveau de la fibre musculaire lisse "in vivo", le dextromoramide, le phénopéridine et le fentanyl provoquent une stimulation intense de la motricité intestinale qui peut être inhibée partiellement par l'atropine.

L'activité de type "cholinergique"constatée au niveau de l'appareil cardiovasculaire se retrouve donc en partie au niveau de diverses structures à fibres lisses.

Dans toutes les expérimentations précédentes, l'atropine était injectée après l'analgésique dans le but de supprimer ou d'atténuer ses effets de type acétylcholinomimétique.

Aussi, il nous a semblé intéressant, l'atropine en neuroleptanalgésie étant utilisée en prémédication, d'étudier in vivo l'action du dextromoramide, de la phénopéridine et du fentanyl sur certaines fonctions organiques après administration du parasympatholytique.

Les effets de type "cholinergique" les plus prononcés in vivo après analgésique ayant été observés sur la pression artérielle et la fibre intestinale, nous avons choisi d'étudier l'action préventive de l'atropine à ces 2 niveaux.

2.1.2. EXPERIMENTATIONS :

Nous avons étudié à la fois les variations de la pression artérielle et de la motricité intestinale chez le chien batard des 2 sexes anesthésié par injection intraveineuse d'une solution isotonique de chloralose à 1 pour 100 (0,1 g/ kg) et maintenu en respiration artificielle au moyen d'une pompe Bird.

La pression artérielle a été mesurée au niveau de l'artère carotide au moyen d'un manomètre à mercure de Ludwig (Boulitte).

L'enregistrement de la motricité intestinale a été réalisé au moyen d'un petit ballonnet de caoutchouc rempli d'eau introduit dans la lumière du jéjunum. Celui-ci étant raccordé à un tambour enregistreur de MAREY.

Les substances utilisées ont été injectées par voie veineuse par l'intermédiaire d'une canule physiologique introduite dans la saphène externe de la patte postérieure du chien. Nous avons effectué deux sortes d'essais différents :

2.1.2.1. PREMIERE SERIE D'EXPERIMENTATIONS : MODIFICATION DES EFFETS APRES INJECTION D'ATROPINE.

Chez certains animaux, nous avons procédé aux injections des différents produits selon un ordre bien défini :

- Après avoir vérifié que l'animal répond bien à l'adrénaline, l'acétylcholine et l'occlusion des carotides ; nous avons injecté :

- l'atropine à la dose de 1 mg/kg, dose arbitrairement choisie en fonction de son activité,

- 5 minutes après, l'analgésique à des doses équiactives,

- 1 ou 2 heures plus tard, lorsque la pression artérielle et la motricité intestinale sont revenues à la normale, une dose d'analgésique identique à la première.

Nous avons comparé les variations produites par l'analgésique après action du parasympatholytique à celles occasionnées par l'analgésique seul.

A partir de la dose de dextromoramide que nous avons fixée à 100 µg/kg en fonction de son activité sur les 2 paramètres enregistrés, nous avons déterminé les doses d'administration des autres analgésiques. Elles obéissent au rapport de leurs puissances analgésiques, soit : (SABATHIE,1964).

Dextromoramide	100 µg/kg
Morphine	1.500 µg/kg
Phénopéridine	80 µg/kg
Fentanyl	10 µg/kg

2.1.2.2. DEUXIEME SERIE D'EXPERIMENTATIONS : MODIFICATION DES EFFETS APRES SECTION DES PNEUMOGASTRIQUES.

Dans cette deuxième série d'essais, sur des animaux placés dans les conditions expérimentales décrites ci-dessus, nous avons procédé à la section des pneumogastriques,

quelques minutes avant l'administration de l'analgésique. Nous avons comparé les réponses obtenues à celles observées en général chez l'animal normal.

2.1.3. RESULTATS.

2.1.3.1. RESULTATS DE LA PREMIERE SERIE D'EXPERIMENTATIONS.

a) Morphine :

L'administration de 1.500 µg/kg de morphine entraînant des phénomènes toxiques, nous l'avons utilisé à la dose de 500 µg/kg seulement.

- Action sur la pression artérielle :

Après atropine, 500 µg/kg de morphine sont à l'origine d'une hypotension apparaissant lentement avec faible bradycardie. La même dose injectée seule après retour à la normale entraîne une hypotension plus accentuée avec bradycardie très importante.

- Action sur la motricité intestinale :

Les propriétés relaxantes de l'atropine s'étant manifestées, l'injection de morphine entraîne immédiatement une augmentation de tonus du tractus intestinal sans modification importante de ses mouvements péristaltiques. L'hypermotricité intestinale se manifeste au bout de 20 ou 30 minutes, alors qu'elle est immédiate après injection de morphine seule.

c) Dextromoramide :

- Action sur la pression artérielle :

A la dose de 100 µg/kg le dextromoramide administré 5 minutes après 1 mg/kg d'atropine n'entraîne qu'une légère hypotension, alors qu'injecté seul 2 heures après il est à l'origine d'une hypotension importante suivie d'une bradycardie très prononcée.

- Action sur la motricité intestinale :

Le tonus du jéjunum qui était diminué par l'atropine, revient immédiatement à son niveau initial après injection de 100 µg/kg de dextromoramide. Ce n'est que 20 ou 30 minutes plus tard que l'on observe une augmentation importante de la motricité intestinale comparable à celle que provoque aussitôt une même dose de dextromoramide injecté seul.

c) Phénopéridine :

- Action sur la pression artérielle :

80 µg/kg de phénopéridine injectés 5 minutes après 1 mg/kg d'atropine ne provoquent qu'une faible hypotension. La même dose d'analgésique injectée après retour à la pression normale entraîne une hypotension prononcée suivie d'une bradycardie très importante.

- Action sur la motricité intestinale :

Immédiatement après avoir été injectée, la phénopéridine est à l'origine d'une augmentation brusque du tonus intestinal alors relâché par l'atropine. Les mouvements péristaltiques peu modifiés se maintiennent ainsi pendant une demi-heure avant d'atteindre une amplitude comparable à celle provoquée immédiatement par administration de la même dose de substance seule.

d) Fentanyl :

- Action sur la pression artérielle :

Comme dans les cas précédents, le fentanyl après atropine est à l'origine d'une légère diminution de la pression artérielle sans comparaison avec celle que provoque l'administration de l'analgésique seul; la bradycardie habituellement observée ne se manifeste plus.

- Action sur la motricité intestinale :

Administré 5 minutes après l'atropine, le fentanyl à la dose de 10 µg/kg fait remonter aussitôt à son niveau initial le tonus musculaire du jéjunum relâché par la substance parasympatholytique. Une demi-heure après,

les mouvements péristaltiques enregistrés sont beaucoup moins amples que ceux consécutifs à l'administration de l'analgésique employé seul.

2.1.3.2. RESULTATS DE LA DEUXIEME SERIE D'EXPERIMENTATIONS :

Les enregistrements de la pression artérielle et de la motricité intestinale ont montré dans tous les cas :

- l'absence d'hypotension et de bradycardie,
- l'apparition d'une importante augmentation de la motricité intestinale, après un certain temps de latence.

L'augmentation brutale de tonus obervée chez l'animal normal a complètement disparu.

2.1.4. CONCLUSIONS.

Les effets cardiovasculaires (hypotension et bradycardie) et l'hypermotricité intestinale déclenchée par l'administration de ces analgésiques étant supprimés ou simplement atténués par l'atropine, chef de file des substances parasympatholytiques on peut estimer que le mécanisme d'action de ces substances est de type cholinergique.

Le fait que la bivagotomie ait entraîné des modifications importantes aux résultats généralement observés implique la mise en oeuvre d'un mécanisme d'action central lié à la stimulation directe ou indirecte du centre vagal.

Ce mécanisme qui paraît être à l'origine des phénomènes cardiovasculaires ne suffit pas à expliquer les effets observés au niveau de l'intestin car ils réapparaissent progressivement après l'injection du produit. Etant donné que les analgésiques ne possèdent pas d'activité au niveau ganglionnaire (ROQUEBERT, CANELLAS, DUMARTIN, SABATHIE, 1967) et que leurs effets sont supprimés en grande partie par l'atropine injectée préalablement il est vraisemblable qu'ils agissent aussi à la périphérie.

2.2. ANTAGONISME DEXTROMORAMIDE BRADYKINININE

2.2.1. INTRODUCTION.

Les effets des analgésiques sur la pression artérielle et la motricité intestinale n'étant pas entièrement inhibés par l'atropine, de nombreuses substances capables d'empêcher l'apparition de ces phénomènes, ont été essayées :antispasmodiques, antihistaminiques, antisérotonines... hélas sans succès.

Il nous a cependant semblé intéressant de signaler ici, l'existence d'effets opposés sur la musculature lisse de l'intestin entre ceux provoqués in vivo et in vitro par les analgésiques morphinomimétiques et la bradykinine, ce qui nous a amené à étudier l'action d'une de ces substances vis-à-vis de l'autre.

En effet, alors que les analgésiques provoquent chez l'animal entier une stimulation intense de la motricité intestinale et un relâchement de cet organe in vitro, la bradykinine elle, est à l'origine d'une rapide inhibition du péristaltisme in vivo et contracte lentement l'iléon de cobaye isolé.

L'action de ces analgésiques vis-à-vis de la bradykinine à ce niveau présente d'autant plus d'intérêt que la muqueuse intestinale contient des quantités importantes de kallikréinogène précurseur actif de la bradykinine, et qu'il serait très possible que les kinines jouent un rôle dans la régulation de la motricité intestinale. Des résultats in vitro sur iléon de cobaye isolé avaient déjà

montré que certains analgésiques tels que la morphine, (KOSTERLITZ et coll. 1969) et le dextromoramide (WEBER, LABORIT 1968) possédaient une activité antibradykinine nous avons essayé de mettre en évidence une telle activité en expérimentant sur l'animal entier.

2.2.2. *TECHNIQUE.*

Nous avons expérimenté sur le chien anesthésié au chloralose, sur lequel nous avons enregistré la pression artérielle et la motricité intestinale selon les techniques déjà décrites.

Nous avons cathétérisé les 2 saphènes externes des pattes postérieures de l'animal. Par l'une d'elles, une solution de bradykinine dans du sérum physiologique est perfusée en continu par l'intermédiaire d'un perfuseur Braun à la dose de 10 µg/kg/mn. Par l'autre saphène nous avons injecté 3 minutes après le début de la perfusion, les substances analgésiques étudiées.

Cet essai débordant de notre étude des analgésiques sur les récepteurs cholinergiques, nous avons seulement étudié les effets du dextromoramide utilisé à la dose de 100 µg/kg.

2.2.4. *RESULTATS.*

Après quelques minutes d'enregistrement normal de la pression artérielle et de la motricité intestinale, la perfusion de bradykinine est mise en route, nous observons :

- Une très légère diminution de la pression artérielle, puis celle-ci se maintient à un niveau constant.

- Une diminution progressive jusqu'à inhibition presque totale du tonus intestinal et des mouvements péristaltiques.

Trois minutes après, l'injection de 100 µ g/kg de dextromoramide n'entraîne pas de modifications importantes de ces paramètres.

- La pression artérielle est à nouveau légèrement abaissée.

- Il y a apparition de quelques mouvements péristaltiques de faible amplitude.

Si nous interrompons la perfusion de bradykinine, les phénomènes habituellement observés avec les analgésiques morphinomimétiques réapparaissent presque asssitôt :

- hypotension avec bradycardie très importante,
- stimulation intense des contractions de l'intestin.

La reprise de la perfusion supprime à nouveau tous ces phénomènes.

2.2.4. CONCLUSIONS.

Ces résultats montrent l'existence d'un antagonisme d'effets entre la bradykinine et le dextromoramide.

Cet antagonisme se manifeste aussi bien au niveau de la fibre intestinale qu'au niveau cardiovasculaire.

En nous appuyant sur les considérations suivantes :

- que la bradykinine est rapidement détruite dans le sang (son temps de demie vie chez le chat et le chien est de 17 secondes (FERREIRA et VANE 1967)).
- que les effets relaxants de la bradykinine sur la musculature intestinale ne sont ni d'origine parasympatholytiques (ANTONIO 1968) ni atténués par les adrénolytiques ou ganglioplégiques (LEVY, 1963).
- que la muqueuse intestinale contient des quantités importantes de kallikréinogène.

On pourrait supposer que les kinines endogènes et la bradykinine entre autres, ont un certain rôle dans la régulation de la motricité intestinale. Ce rôle pourrait être celui de frénateur de cette motricité, puisque l'action directe de la bradykinine injectée est inhibitrice.

Certains auteurs n'hésiteraient pas à parler dans ces conditions d'activité antibradykinine, mais, il nous parait plus prudent d'envisager simplement un antagonisme d'effet.

Dans les conditions normales, les effets cholinergiques l'emportent sur les effets de la bradykinine endogène, par contre lors de la perfusion continue de bradykinine, ce sont les effets de cette dernière qui l'emportent.

---°---

2.3. ACTIVITE ANTICHOLINESTERASIQUE DES NEUROLEPTIQUES ET ANALGESIQUES

2.3.1. INTRODUCTION.

Nous avons montré chapitre 2.2. que si les phénomènes de type cholinergique observés avec les analgésiques au niveau de la pression artérielle pouvaient s'expliqer par leur action stimulante sur les centres du vague, il était plus difficile d'expliquer les phénomènes observés au niveau de la motricité intestinale par cette seule action.

Il est vraisemblable que cette action centrale d'ailleurs suggérée par de nombreux auteurs (SLAUGHTER, GROSS, 1938, ALLEN et coll. 1945) dans le cas de la morphine soit renforcée à la périphérie comme l'indiquent nos essais du chapitre 2.2.

FOLDMARK, WRAMMER (1945) et FOLDES et ses collaborateurs (1959) ont même émis l'hypothèse que c'est l'activité anticholinestérasique de la morphine qui augmente à la périphérie ses effets cholinergiques d'origine centrale.

C'est pourquoi, vue l'importance des phénomènes de type "cholinergique" observés avec les analgésiques synthétisés par JANSSEN, il nous a semblé intéressant d'étudier leur action vis-à-vis des cholinestérases par 2 méthodes différentes.

2.3.2. 1ère METHODE : TECHNIQUE MANOMETRIQUE :

Par cette technique, de nombreux auteurs ont montré l'activité anticholinestérasique de la morphine (FOLDES et coll. 1959)(BLOHM et coll. 1951), d'autres morphinomimétiques (WRIGHT 1941), et même de certaines substances neuroleptiques (TODRIK.1954, ERDOS et coll. 1958). Cette méthode est de plus considérée comme une méthode de référence. Aussi, l'avons nous utilisée pour mettre en évidence une activité éventuelle du dextromoramide, de la phénopéridine, du fentanyl ainsi que de l'alimémazine et du déhydrobenzpéridol.

Cependant cette technique étant longue et difficile à mettre en oeuvre, nous n'avons envisagé l'étude cinétique de l'activité des cholinestérases qu'en présence d'une seule concentration en analgésique ou neuroleptique.

Nous avons également étudié la morphine dans les mêmes conditions. Son activité anticholinestérasique étant bien connue, elle nous servira d'élément de comparaison avec les autres substances.

2.3.2.1. PRINCIPE DE LA METHODE.

L'acide acétique libéré par l'hydrolyse enzymatique de l'acétylcholine réagit sur du carbonate acide de sodium ajouté au milieu. Le dégagement de gaz carbonique qui en résulte est directement proportionnel à la quantité d'acide acétique formé.

On détermine directement le volume de CO_2 dégagé par mesure manométrique de la pression. Par un simple calcul, on convertit cette pression en micromoles d'acide acétique libéré, donc d'acétylcholine hydrolysée.

2.3.2.2. TECHNIQUE.

Source de Cholinestérases : hématies provenant de sang humain, frais, recueilli sur héparine, lavées 3 fois avec une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1.000, par centrifugation pendant 10 minutes à 2.500 tours/mn.

On utilise une préparation hémolysée d'hématies à 25 pour 100, réalisée en ajoutant 3 parties d'eau distillée à 1 partie de purée globulaire.

Substrat : solution d'iodure d'acétylcholine de concentration : 1,8 mM par litre.

Réactifs utilisés :

- Solution de soude 5 mM,
- Solution d'acide acétique à 5 pour 1.000,
- Solution de chlorure de sodium à 22 pour 100,
- Solution de bicarbonate de soude de concentration 0,12 M par litre,
- Mélange gazeux contenant en volume 5 pour 100 de CO_2 et 95 pour 100 d'azote.

Appareillage :

Nous avons utilisé le microrespiromètre à volume constant de Warburg, équipé de 10 fioles coniques standard de 5 millilitres, possédant un diverticule latéral de 1 ml de contenance. Ces fioles baignent dans un bain-marie maintenu à 37° par un thermostat sensible au 1/10e de degré C. Les manomètres sont reliés entre eux de façon à pouvoir être balayés par un courant d'azote à 5 pour 100 de CO_2 avant les mesures.

2.3.2.3. MODE OPERATOIRE.

Par suite de difficultés techniques rencontrées avec les substances que nous avons contrôlées, le dextromoramide par exemple, précipitant à pH voisin de 6,8, il ne nous a pas été permis de travailler au pH de 7,5 préconisé par AMMON (1934).

Il nous a fallu opérer de telle sorte que dans toutes les expérimentations notre milieu réactionnel soit à un pH inférieur. Nous avons choisi d'opérer à pH 6,4 afin d'avoir une marge de pH suffisante pour parer à cet inconvénient.

Nous avons opéré en 2 temps.

* Dans un premier temps, l'hémolysat dont on veut déterminer l'activité cholinestérasique est préalablement préparé dans le vase à réaction du Combititreur Méthrom que nous décrirons page 60 dans la technique titrimétrique afin de contrôler en permanence leur pH. Les différents réactifs sont ajoutés dans l'ordre suivant (toutes ces opérations se déroulant à 37° sous atmosphère d'azote contenant 5 pour 100 de CO_2). :

- Eau permutée dégazée,
- Solution CH_3 COOH à 5 p. 1.000 dans l'eau permutée q.s.p..... 22,7ml
- Solution NaCl à 22 pour 100..... 1 ml
- Solution de CO_3 HNa..... 0,3ml

Dans ces conditions expérimentales (atmosphère à 5 pour 100 de CO_2 , température à 37° C.) cette concentration en carbonate acide de sodium, suffisante pour assurer un bon dégagement de CO_2, permet d'amener le pH de la solution au voisinage du pH 6,4.

- Hémolysat dilué au 1/4..... 1 ml

Le volume final de la solution doit être de 25 ml et son pH de 6,4.

Les substances dont on a étudié l'activité vis-à-vis des cholinestérases, ont été ajoutées après la solution de chlorure de sodium.

Dans tous les cas, les concentrations en chlorure de sodium, bicarbonate de soude et préparation enzymatique doivent rigoureusement être invariables.

* Dans un deuxième temps, 4,5 ml de cette solution enzymatique sont placés dans le compartiment principal des fioles et 0,5 ml de substrat dans le diverticule latéral.

Les fioles sont alors abouchées à leurs manomètres respectifs, et le mélange gazeux à 95 pour 100 d'azote et 5 pour 100 de CO_2 servant à saturer la solution bicarbonatée traverse l'appareil.

L'équilibre de température à 37° est obtenu en agitant les fioles pendant 10 minutes environ dans le bain-marie maintenu à température constante.

Quand cet équilibre est atteint, le substrat et l'enzyme sont mis en contact par renversement de la fiole, et le temps est décompté à partir de cet instant. Les mesures manométriques sont prises à divers intervalles de temps. Nous avons choisi arbitrairement les temps suivants : + 4 minutes, + 8 minutes, + 15 minutes, + 22 minutes.

A chaque expérimentation, 10 fioles sont placées dans le bain-marie :

- 4 contiennent la substance dont on recherche l'activité,
- 4 contiennent l'ensemble des réactifs, excepté le composé étudié,
- Une fiole contenant 5ml d'eau distillée est utilisée comme thermobaromètre. Il a pour but de tenir compte des variations de température et de pression atmosphérique, susceptibles de se produire pendant l'expérimentation. Il permet de corriger les lectures positivement ou négativement selon les variations constatées.
- Une fiole contient l'ensemble des réactifs sauf la solution enzymatique ; elle permet de vérifier la stabilité de l'acétylcholine dans ces conditions.

2.3.2.4. EXPRESSION DES RESULTATS.

Les valeurs manométriques mesurées, Δh (=variations de pression exprimée en mm du liquide de Brodie à l'intérieur du manomètre) sont corrigées des changements de pression du thermobaromètre. = Δh_{th}

Δh corrigé = $\Delta h - \Delta h_{th}$

Cette valeur est multipliée par la constante propre à chaque fiole ($K CO_2$) pour obtenir en microlitres le volume de CO_2 dégagé :

Volume de CO_2 dégagé = Δh corrigé en mm xKCO_2 en µl.

Cette constante pour le gaz carbonique est donnée par la formule :

$$KCO_2 = \frac{Vg \times \frac{273}{T} + Vf\alpha}{Po}$$

où =

Vg = Volume total (fiole + manomètre) - Volume du liquide contenu dans la fiole en microlitres

T = Température absolue du bain en degré K, soit 273° + 37° = 310

Vf = Volume en microlitres, du liquide contenu dans la fiole,

α = Solubilité du gaz formé, dans le liquide réactionnel. Dans le cas, du CO_2 ce facteur est de 0,54, il est donné par des tables spéciales.

Po = Pression type qui correspond à 760 mm. de mercure ou 10.000 mm. de liquide de Brodie.

Le volume de gaz carbonique libéré, en microlitres correspondant à la quantité d'acide acétique formé, donc d'acétylcholine hydrolysée, s'obtient en multipliant le résultat de la lecture corrigée par la constante KCO_2.

Ce volume est proportionnel à l'activité cholinestérasique de l'échantillon de sang étudié.

Nous avons pour chaque substance étudiée déterminé son pouvoir inhibiteur vis-à-vis de l'acétylcholinestérase à un moment donné. Nous avons arbitrairement choisi 5 minutes, car ce temps de contact entre l'enzyme et le substrat correspond approximativement au plus grand laps de temps pendant lequel les courbes représentant les cinétiques de l'action des cholinestérases sont à peu près rectilignes.

Le pourcentage d'inhibition des cholinestérases au bout de 5 minutes dont est responsable la substance X étudiée est donné par la relation suivante :

$$\frac{\text{Quantité } CO_2 \text{ témoin} - \text{Quantité } CO_2 \text{ X}}{\text{Quantité } CO_2 \text{ témoin}} \times 100$$

- Quantité CO_2 témoin = Quantité de CO_2 dégagée en µ l en absence d'inhibiteur,

- Quantité CO_2 X = Quantité CO_2 en µl dégagée en présence d'inhibiteur.

Les résultats obtenus dans ces conditions avec les analgésiques et les neuroleptiques sont les suivants :

2.3.2.5. RESULTATS.

2.3.2.5.1. Résultats obtenus avec les analgésiques.

I. Résultats obtenus avec la morphine.

Nous avons déterminé l'activité de la morphine vis-à-vis des cholinestérases globulaires dans les conditions expérimentales que nous avons précisé ci-dessus.

Cette substance aux propriétés anticholinestérasiques souvent mises en évidence par cette technique (WRIGHT, 1941, YOUNG, 1955, FOLDES et coll. 1959) servira de référence pour les autres analgésiques.

Les résultats rassemblés dans le tableau I correspondent dans chaque cas à la moyenne de 8 mesures effectuées dans les mêmes conditions, la concentration en morphine base utilisée est de : $4,8 \times 10^{-4}$M par litre.

Cette concentration a été choisie pour son activité importante après plusieurs essais.

CO_2 dégagé en µl / *Temps en mn.*	*Témoin*	*Morphine $4,8 \times 10^{-4}$ M*
0 - 4	8,5 ± 1,9	2,8 ± 1
4 - 8	6,3 ± 1,2	4,5 ± 1,1
8 - 15	5,7 ± 1,1	5,8 ± 1,2
15 22	0,86± 0,12	3,3 ± 0,9

Tableau I - Activité anticholinestérasique de la Morphine.

Les valeurs trouvées permettent de tracer les courbes représentant la vitesse d'hydrolyse enzymatique en portant en abscisse les temps, et en ordonnée les quantités de CO_2 dégagées exprimées en microlitres. Les allures des courbes obtenues avec et sans morphine sont représentées figure 5.

Elles permettent de constater que la présence de morphine diminue cette vitesse d'hydrolyse, donc présente une certaine activité anticholinestérasique.

Le pourcentage d'inhibition des cholinestérases dont elle est responsable à cette concentration au bout de 5 minutes est d'environ 60 pour 100.

II. Résultats obtenus avec le dextromoramide.

Le dextromoramide se trouvant sous forme de bitartrate dans la spécialité commercialisée sous le nom de Palfium, nous avons été amenés à réaliser des témoins contenant en solution une quantité équivalente de bitartrate de sodium.

Les quantités de CO_2 dégagées, rapportées dans le tableau ci-dessous, correspondent à la moyenne de 12 mesures effectuées dans les mêmes conditions. La concentration utilisée exprimée en dextromoramide base est de $9,1 \times 10^{-4}$ M ; concentration choisie après de multiples essais pour sa grande activité.

CO_2 dégagé en µl / *Temps en mn.*	*Témoin*	*Dextromoramide $9,1 \times 10^{-4}$ M*
0 - 4	6,6 ± 1,6	1,9 ± 0,8
4 - 8	7,6 ± 1,25	3,1 ± 1
8 - 15	4,7 ± 0,9	4,7 ± 1
15 - 22	1,1 ± 0,3	3,1 ± 0,7

Tableau II - Activité anticholinestérasique du Dextromoramide.

Le pourcentage d'inhibition des cholinestérases par le dextromoramide après 5 minutes déterminé à partir de la courbe d'hydrolyse représentée figure 6 est pour cette concentration d'environ 70 pour 100.

III. Résultats obtenus avec la phénopéridine.

Le soluté injectable commercialisé sous le nom de Phénopéridine, contenant une certaine quantité de parahydroxybenzoate de méthyle et de parahydroxybenzoate de propyle, il nous a fallu utiliser comme termes de comparaison des solutions renfermant les mêmes quantités de conservateurs.

Les moyennes de 8 mesures de la quantité de CO_2 libérée par les mélanges témoins et par les solutions contenant la phénopéridine sont inscrites dans le tableau ci-dessous :

CO_2 dégagé en µl / *Temps en mn.*	*Témoin*	*Phénopéridine $17,8 \times 10^{-4}$ M*
0 - 4	6,1 ± 1,2	3,9 ± 0,9
4 - 8	6, ± 1,1	4,6 ± 1
8 - 15	5,7 ± 1	6,8 ± 0,8
15 - 22	1,6 ± 0,7	3,1 ± 0,7

Tableau III - Activité anticholinestérasique de la Phénopéridine.

La concentration molaire de $17,8 \times 10^{-4}$ M en phénopéridine utilisée correspond à la concentration maximale qu'il nous était matériellement possible d'atteindre dans ces conditions expérimentales (produit spécialisé en flacons de 10 m).

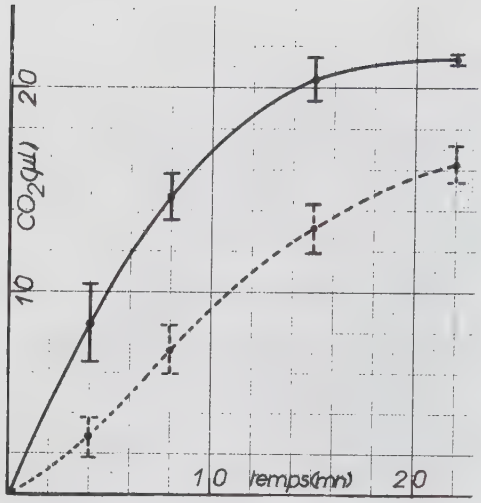


FIGURE 5

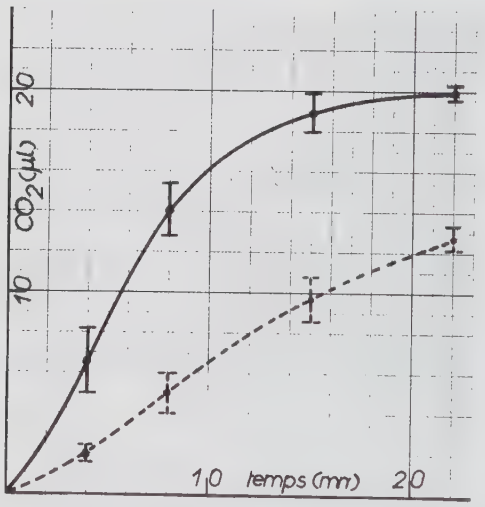


FIGURE 6

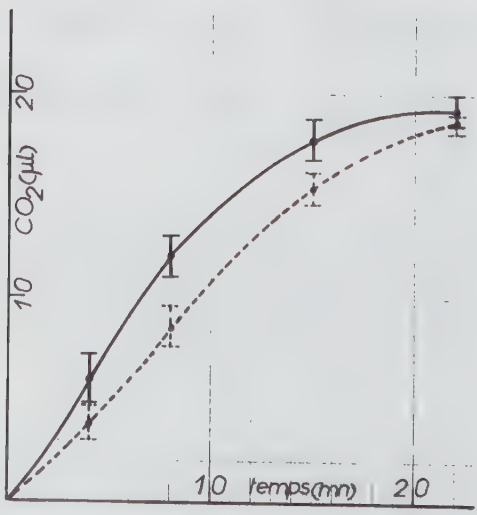


FIGURE 7

D'après la courbe 7 représentant la vitesse d'hydrolyse enzymatique, la phénopéridine à cette concentration est responsable de l'inhibition de 35 pour 100 des cholinestérases au bout de 5 minutes.

IV. Résultats obtenus avec le Fentanyl.

Le produit spécialisé sous le nom de Fentanyl est présenté lui aussi en soluté injectable aqueux additionné de substances conservatrices. Nous avons donc réalisé les témoins de telle façon qu'ils contiennent également ces substances aux mêmes concentrations que dans le produit commercialisé.

Les résultats notés dans le tableau suivant correspondent à la moyenne de 12 expérimentations réalisées avec le fentanyl utilisé à la concentration de $1,07 \times 10^{-4}_{M}$, concentration maximale qu'il nous était permis d'atteindre à partir du produit spécialisé (flacons de 10 ml faiblement concentrés en analgésique).

CO_2 dégagé en µl / *Temps en mn.*	*Témoin*	*Fentanyl* $1,07 \times 10^{-4}$ *M*
0 - 4	5 ± 2	4,7 ± 1,5
4 - 8	5,8 ± 0,7	5,6 ± 0,7
8 - 15	5,3 ± 0,8	5,5 ± 1
15 - 22	1,7 ± 0,9	2,1 ± 1

Tableau IV - Activité anticholinestérasique du Fentanyl.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité cholinestérasique par le fentanyl déterminée au bout de 5 minutes d'après la courbe représentée figure 8 est très faible, d'environ 5 pour 100.

En conclusions, tous les analgésiques étudiés possèdent une activité anticholinestérasique plus ou moins importante que nous avons pu évaluer dans tous les cas sauf pour le Fentanyl, les résultats obtenus n'étant pas significatifs.

2.3.2.5.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques.

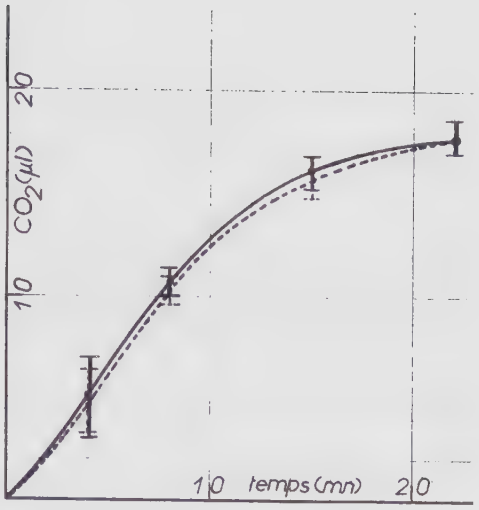
I. Résultats obtenus avec l'alimémazine.

Les moyennes de 12 mesures du CO_2 libéré consécutivement à l'hydrolyse de l'acétylcholine par les cholinestérases érythrocytaires en présence de 6×10^{-4} M d'alimémazine sont inscrites dans le tableau ci-dessous en regard de la moyenne des mesures témoins obtenues dans les mêmes conditions en l'absence d'inhibiteur. Cette concentration a été choisie à la suite d'essais préliminaires en fonction de son activité correspondant sensiblement à celle de $4,8 \times 10^{-4}$ M de Morphine.

CO_2 dégagé en µl / *Temps en mn.*	*Témoin*	*Alimémazine 6×10^{-4} M*
0 - 4	8,2 ± 2,2	3,2 ± 1,4
4 - 8	6, ± 0,7	4 ± 0,5
8 - 15	3,8 ± 1,8	4 ± 0,7
15 - 22	0,8 ± 0,6	2,2 ± 1,1

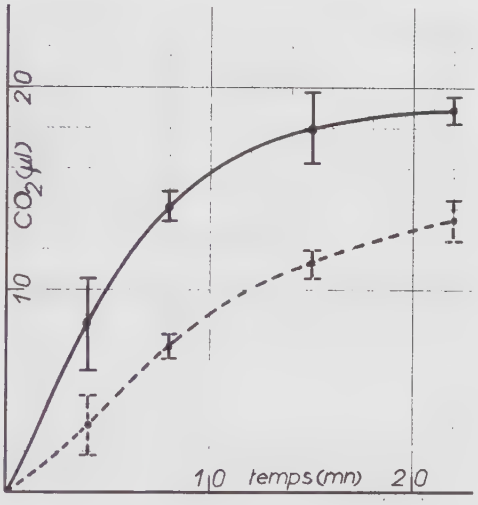
Tableau V - Activité anticholinestérasique de l'alimémazine.

Les courbes représentant (figure 9) les vitesses d'hydrolyse de l'acétylcholine permettent de mettre en évidence une inhibition des cholinestérases de 60 pour 100 dans ces conditions.



TEMOIN
FENTANYL
$1{,}07 \times 10^{-4} M$

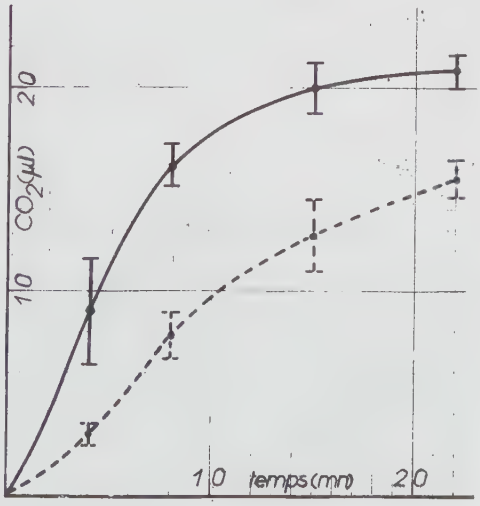
FIGURE 8



TEMOIN

ALIMEMAZINE
$6 \times 10^{-4} M$

FIGURE 9



TEMOIN

DEHYDROBENZPERIDOL
$3{,}8 \times 10^{-4} M$

FIGURE 10

II. Résultats obtenus avec le Déhydrobenzpéridol.

Les résultats reportés tableau VI correspondent à la moyenne de 12 mesures déterminées dans les mêmes conditions avec une concentration en déhydrobenzpéridol de $3,8 \times 10^{-4}$ M, choisie en raison de sa nette activité.

CO_2 dégagé en µl Temps en mn.	Témoin	Déhydrobenzpéridol $3,8 \times 10^{-4}$ M
0 - 4	9 ± 2,6	3 ± 0,5
4 - 8	7,2 ± 1	4,8 ± 1,1
8 - 15	3,8 ± 1,3	5 ± 1,8
15 - 22	0,8 ± 0,8	2,8 ± 0,9

Tableau VI - Activité anticholinestérasique du Déhydrobenzpéridol.

Le pourcentage d'inhibition calculé d'après la courbe d'hydrolyse de l'acétylcholine (figure 10)est de 65 pour 100 après 5 minutes de contact.

En conclusion, ces neuroleptiques possèdent tous deux une activité inhibitrice vis-à-vis des cholinestérases sensiblement équivalente à celle présentée par la Morphine.

2.3.3. - 2ème METHODE : TECHNIQUE TITRIMETRIQUE.

La technique précédente nous indique que toutes les substances étudiées présentent une activité anticholinestérasique plus ou moins importante, mais ne nous permet pas de les comparer entre elles. C'est pourquoi nous avons repris cette étude par une méthode plus adaptée aux mesures en série par suite de sa rapidité : la titrimétrie à pH maintenu constant.

2.3.3.1. PRINCIPE DE LA METHODE.

Les cholinestérases vraies, abondantes dans les hématies, mises en contact avec leur substrat spécifique, l'Acétylcholine, l'hydrolysent rapidement en choline et acide acétique. L'acide acétique est alors neutralisé automatiquement au fur et à mesure de sa libération par de la soude, de telle sorte que le pH soit maintenu constant.

L'activité cholinestérasique vraie de la solution d'hématies étudiée sera proportionnelle à la quantité de soude utilisée.

2.3.3.2. TECHNIQUE.

Source de cholinestérases : Hémolysat obtenu comme dans l'expérimentation précédente par hémolyse d'une partie de purée globulaire dans 3 parties d'eau permutée dégazée.

Substrat : Solution d'iodure d'acétylcholine de concentration : 5 mM par litre.

Réactifs utilisés :

- Eau déminéralisée, portée à ébullition, afin d'éliminer le CO_2 .
- Solution de chlorure de sodium à 22 pour 100.
- Solution d'hydroxyde de sodium titrée de concentration 2,5 mM.
- Solution d'acide acétique diluée à 1 pour 1000.

Appareillage :

La mesure de l'activité cholinestérasique est réalisée par titration continue automatique au moyen d'un combititreur 30 Méthrom comprenant :

- un pHmètre E 300 B réglé sur sa gamme étalée (pH = 5,8 - 8,4) permettant une régulation de pH avec une sensibilité d'action de 0,01 d'unité pH.

- un Impulsomat E 373 utilisé comme régulateur de pH.

- un microdosigraphe E 425-1, équipé d'une seringue en verre de 1 ml, enregistrant la position du piston de la seringue en fonction du temps.
- la réaction s'effectue dans un vase à fond plat de 25 ml à double paroi avec agitateur magnétique, permettant d'opérer à la température constante de 38°C. sous atmosphère d'Azote.
- la température constante de 38°C. est obtenue par l'utilisation d'un thermostat à circulation d'eau d'une précision de ± 0,1°C.

2.3.3.3. MODE OPERATOIRE.

La technique utilisée pour la détermination de l'activité cholinestérasique vraie globulaire est basée sur la méthode décrite par JORGENSSEN (1959) modifiée par JENSSEN-HOLM et coll. (1959) et JOHANNESSON (1962).

Préparation des témoins :

On mélange dans le vase de titration 1 ml d'hémolysat avec 22,5 ml d'eau permutée dégazée par ébullition, pendant 7 minutes à 38° sous atmosphère d'azote (afin d'éviter toute action du CO_2 de l'air) pour avoir une hémolyse complète.

Puis, on ajoute 1 ml de solution de chlorure de sodium à 22 pour 100 pour rendre la solution sanguine isotonique, et on attend environ 3 minutes que la température soit stabilisée.

Détermination de l'activité cholinestérasique de la prise d'essai :

Par suite de difficultés techniques rencontrées avec les substances que nous avons contrôlées, le dextromoramide, par exemple, précipitant à un pH voisin de 6,80, nous avons été amenés à travailler à pH : 6,75 alors que le pH normal du sang se situe aux environs de 7,4.

Le pHmètre étant étalonné, l'impulsomat réglé pour maintenir le pH de départ, la burette de titrage remplie de solution de NaOH 2,5 mM et les électrodes plongées dans la solution sanguine diluée, on mesure le pH de cette solution qu'on ajuste à 6,75 au moyen d'une solution d'acide acétique diluée à 1 pour 1.000.

On commence alors le titrage en amenant le commutateur sélecteur de fonctions de l'Impulsomate sur la position "NO STOP".

Pour vérifier qu'il n'y a pas libération spontanée d'acide, ce qui est rare avec du sang frais, on enregistre pendant 1 minute la courbe obtenue. On ajoute alors 350 µl de la solution d'iodure d'acétylcholine avec une pipette de précision.

L'acide acétique libéré par hydrolyse du substrat est aussitôt neutralisé par une certaine quantité de soude immédiatement enregistrée par l'appareil.

L'enregistrement est arrêté, lorsque la cinétique de la réaction catalysée par l'enzyme n'est plus linéaire.

Dans les conditions expérimentales utilisées, cet effet se manifeste au bout de deux minutes environ. Aussi avons-nous choisi 2 minutes comme temps de titrage.

Lecture de la courbe :

Les courbes enregistrées indiquent en abscisse les quantités d'hydroxyde de sodium utilisées en dixièmes de millilitre et en ordonnée les temps en minutes qui correspondent à la vitesse de déroulement du papier.

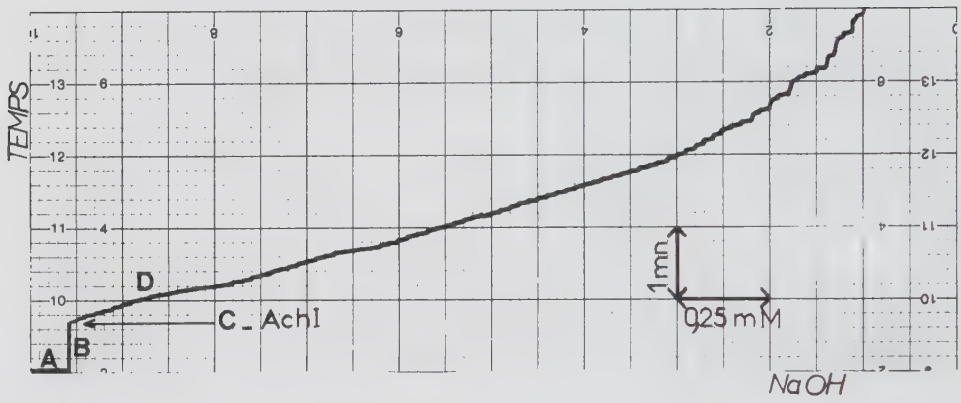
Les différentes étapes de l'enregistrement sont représentées dans la courbe ci-dessous. Elles se succèdent dans l'ordre suivant :

A. Titration préparatoire pour amener le pH du mélange réactionnel à la valeur désirée,

B. Phase d'attente permettant de mettre en évidence une éventuelle hydrolyse spontanée du mélange réactionnel,

C. Addition du substrat : l'iodure d'acétylcholine,

D. Départ de la courbe de titration qui correspond à l'activité des cholinestérases.



Les quatres phases de l'enregistrement de l'activité des cholinestérases erhytrocytaires par titration automatique.

2.3.3.4. EXPRESSION DES RESULTATS.

Les résultats peuvent être exprimés directement en quantité de soude nécessaire pour neutraliser l'acide acétique libéré en 2 minutes par hydrolyse de l'acétylcholine ; mais, nous avons trouvé préférable de nous conformer aux recommandations de la commission de Chimie Clinique de l'Union Internationale Chimie Pure et Appliquée (I.U.P.A.C.) et de celle des Enzymes de l'Union Internationale de Biochimie (I.U.B.) qui conseillent d'exprimer les unités cliniques d'enzyme en micromoles de substrat transformé en 1 minute par 1 ml de tissu (COURTOIS 1959, DESNUELLE 1959).

Comme 1 micromole d'acétylcholine libère par hydrolyse complète 1 micromole d'acide acétique immédiatement neutralisée par 1 micromole de soude;que 1 ml de la solution de soude utilisée contient 2,5 µM, que notre

prise d'essai correspond à 0,25 ml d'hématies et que nous avons adopté comme temps de titrage 2 minutes, l'activité cholinestérasique de notre échantillon est donnée par l'équation :

$$\text{hE) } \mu\text{mol/ml/mn} = \frac{\text{Qte NaOH utilisée en ml x (CONC) moléculaire sol.NaOH}}{\text{volume tissu en ml x temps en mn.}}$$

$$= \frac{\text{Qte NaOH utilisée en ml x 2,5}}{0,25 \times 2}$$

$$= \text{Qte NaOH utilisée en ml x 5}$$

Les activités cholinestérasiques de nos échantillons mis en présence de substances inhibitrices étant déterminées, il sera facile de les comparer à celles des témoins, et d'évaluer ainsi le pourcentage d'inhibition des cholinestérases dû à ces substances en appliquant la relation suivante :

Pourcentage d'inhibition des cholinestérases dont est reponsable la substance X =

$$\frac{\text{(ChE) témoin - (ChE) X}}{\text{(ChE) témoin}} \times 100$$

(ChE) témoin = activité cholinestérasique du sang témoin
(ChE) X = activité cholinestérasique du même sang placé dans les mêmes conditions, mais en présence de la substance X.

2.3.3.5. RESULTATS.

En opérant suivant la technique précédemment exposée, nous avons dans un premier temps mesuré l'activité anticholinestérasique des 3 analgésiques : le dextromoramide, la phénopéridine et le fentanyl par rapport à celle de la morphine qui a fait l'objet par ailleurs d'un certain nombre d'études par des techniques analogues.

Puis, dans un deuxième temps, nous avons évalué le pouvoir inhibiteur des deux neuroleptiques généralement associés à ces analgésiques : l'alimémazine et le déhydrobenzpéridol; et enfin, nous avons mesuré l'activité anticholinestérasique des différentes associations analgésiques-neuroleptiques utilisées dans les proportions préconisées en Neuroleptanalgésie.

2.3.3.5.1. Résultats obtenus avec les analgésiques.

Les quantités de produits en notre possession étant limitées (tableau B), nous n'avons déterminé que l'activité anticholinestérasique de ces substances utilisées à différentes concentrations sans jamais faire varier la concentration en substrat. Aussi, n'avons nous pu effectuer l'étude du type d'inhibition des cholinestérases ; ceci d'ailleurs n'était pas l'objet de notre travail. Dans le cas de la morphine, il a été montré que l'inhibition enzymatique était compétitive (FOLDES et coll., 1959 - HEIN, POWELL, 1967) et réversible (JOHANNESSON, 1962, 1967).

I. Résultats obtenus avec la morphine :

Les différentes quantités de chlorhydrate de Morphine ont été mises à incuber en début de titration avec la solution d'hématies, soit 10 minutes avant l'addition du substrat.

Les résultats obtenus sont inscrits tableau VII, ils correspondent à la moyenne de 5 mesures, les concentrations de Morphine utilisées sont exprimées en Morphine base. (voir tableau VII page suivante).

Concentrations en Morphine Base	NaOH 2,5 mM en ml	(AChE) µmol/ml/mn	% inhibition des Cholinestérases
0	0,610 ± 0,050	3,05	0
06 x 10^{-4} M	0,410 ± 0,059	2,05	32,7
6 x 10^{-4} M	0,375 ± 0,070	1,875	38,5
13 x 10^{-4} M	0,315 ± 0,060	1,565	48,4
66 x 10^{-4} M	0,285 ± 0,060	1,425	53,3

ableau VII - Activité anticholinestérasique de la morphine base.

Il y a inhibition des cholinestérases qui se traduit par une augmentation de la pente de la courbe de neutralisation (les courbes représentées Figure 11 montrent un exemple de réponses obtenues directement avec l'appareil).

La quantité de soude nécessaire pour neutraliser l'acide acétique libéré par hydrolyse est lue en abscisse le temps en ordonnée.

D'après les données du tableau VII, nous avons exprimé sous forme graphique (figure 17) les différentes vitesses d'hydrolyse de l'acétylcholine en fonction des concentrations extrêmes en morphine par rapport au témoin.

Cela nous montre, en accord avec de nombreux auteurs, que la morphine possède bien une activité anticholinestérasique marquée, et que cette activité varie dans le même sens que sa concentration.

II. Résultats obtenus avec le Dextromoramide :

Nous avons directement utilisé le Palfium ®, spécialité pharmaceutique contenant par millilitre 5 mg de dextromoramide base sous forme de bitartrate.

En raison de la forte acidité de cette solution, nous étions obligés en début d'expérimentation de la ramener à pH voisin de 6,75 par addition de soude 5 mM ; le pH de 6,75 étant proche du pH auquel le bitartrate de dextromoramide précipite.

Les résultats moyens obtenus lors de 5 essais différents avec des concentrations croissantes de dextromoramide exprimées en dextromoramide base sont reportées dans le tableau suivant (tableau VIII).

Concentrations en Dextromoramide	*NaOH 2,5 mM en ml*	*(AChE) µmol/ml/mn*	*% Inhibition des cholinestérases*
0	0,600 ± 0,052	3	0
1,5 x 10^{-4} M	0,475 ± 0,048	2,375	20,8
3 x 10^{-4} M	0,355 ± 0,061	1,775	40,8
4 x 10^{-4} M	0,285 ± 0,050	1,425	52,5
5 x 10^{-4} M	0,220 ± 0,045	1,1	63,3

Tableau VIII - Activité Anticholinestérasique du dextromoramide base.

Cette diminution de l'activité des acétylcholinestérases en présence de dextromoramide est très visible sur les courbes de neutralisation inscrites directement par l'appareil (figure 12).

Nous avons exprimé sous forme graphique (figure 17) les vitesses d'hydrolyse du substrat en présence des 2 concentrations extrêmes de dextromoramide par rapport au témoin.

Le dextromoramide présente donc une activité anticholinestérasique manifeste qui semble au vu des résultats reportés dans les tableaux VII et VIII environ 2 fois moindre que celle de la morphine. Elle varie elle aussi en fonction de la concentration utilisée.

III. Résultats obtenus avec la phénopéridine.

Au cours d'une étude préalable nous avons recherché si le produit utilisé comme solvant du produit spécialisé sous le nom de Phénopéridine (R) n'était pas susceptible d'inhiber l'activité des cholinestérases.

Cette étude a pu montrer que ce solvant entraîne une certaine inhibition de ces enzymes dans les proportions données dans le tableau suivant :

Concentrations en Solvant	*NaOH 2,5 mM en ml*	*(AChE) µmol/ml/mn*	*% inhibition des Cholinestérases*
0	0,630 ± 0,045	3,15	0
2,5ml/25 ml	0,615 ± 0,027	3,075	2,38
5 ml/25 ml	0,605 ± 0,053	3,025	3,96
7,5ml/25 ml	0,590 ± 0,049	2,95	6,3
10 ml/25 ml	0,575 ± 0,052	2,875	8,7

Tableau IX. - Activité Anticholinestérasique du Solvant de la phénopéridine.

C'est pourquoi, l'activité anticholinestérasique des milieux contenant la phénopéridine a été comparée à l'activité des milieux témoins obtenus en remplaçant une certaine quantité d'eau déminéralisée bouillie par la même quantité de solvant correspondant aux doses de solution de phénopéridine utilisées.

Les résultats moyens obtenus après 5 mesures sur des sangs différents, en opérant de la sorte sont inscrits dans le tableau ci-après, , (tableau X).

Concentrations en phénopéridine	Volume en solvant correspondant	NaOH 2,5 mM en ml		(AChE)µ mol/ml/mn		% Inhibition des Cholinestérases
		Solvant	Solv.+ Phén.	Solvant	Solv.+ Phén.	
2,5 x 10^{-4}M	2,5 ml/25 ml	0,615± 0,050	0,580± 0,040	3,075	2,9	5,7
5 x 10^{-4}M	5 ml/25 ml	0,605± 0,047	0,530± 0,043	3,025	2,65	12,3
7,5 x 10^{-4}M	7,5 ml/25 ml	0,590± 0,051	0,455± 0,036	2,95	2,275	22,9
1 x 10^{-3}M	10 ml/25 ml	0,575± 0,052	0,405± 0,042	2,875	2,025	29,4

Tableau X - Activité anticholinestérasique de la phénopéridine base.

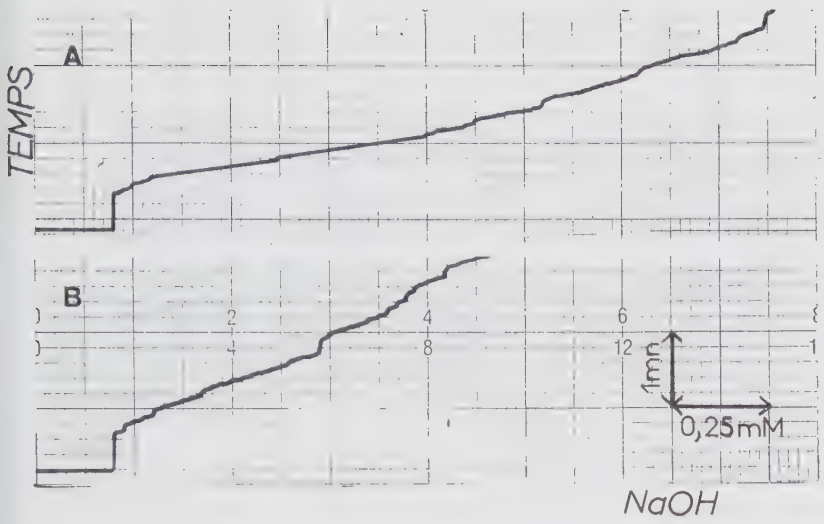


FIGURE 11

A. COURBE TEMOIN

B. MORPHINE
$2{,}66 \times 10^{-4}$ M

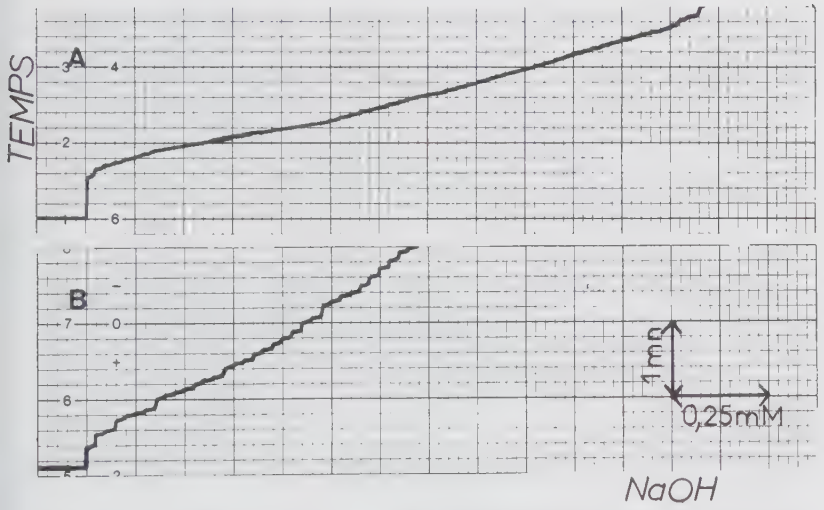


FIGURE 12

A. COURBE TEMOIN

B. DEXTROMORAMIDE
4×10^{-4} M

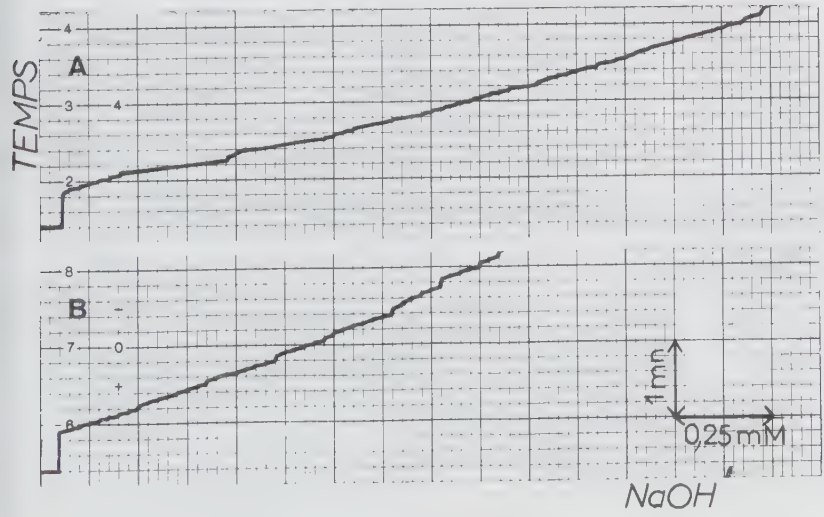


FIGURE 13

A. COURBE TEMOIN

B. PHENOPERIDINE
1×10^{-3} M

Nous avons donné à titre d'exemple de cette inhibition la courbe d'activité des cholinestérases en présence de la plus forte concentration en phénopéridine base telle qu'elle est fournie par l'enregistreur (figure 13).

Nous avons représenté (figure 17) les vitesses d'hydrolyse de l'acétylcholine en présence des 2 concentrations extrêmes de phénopéridine utilisées comparées aux témoins correspondants.

La phénopéridine se montre inhibitrice des acétylcholinestérases avec une activité croissant en fonction de sa concentration, mais toujours nettement inférieure à celle des deux autres analgésiques déjà étudiés .

IV. Résultats obtenus avec le fentanyl :

Le solvant du fentanyl, solution injectable fournie par les Laboratoires LE BRUN étant identique à celui de la phénopéridine, nous avons directement comparé l'activité anticholinestérasique du fentanyl en solution à des quantités correspondantes de solvant seul.

En raison de la faible concentration de fentanyl dans le soluté injectable du commerce, nous n'avons pu étudier le fentanyl qu'à de faibles concentrations et à deux doses différentes seulement. Chaque valeur inscrite sur le tableau ci-dessous (tableau XI) correspond néanmoins à la moyenne de 5 mesures.

Concentration en Fentanyl	*Volume en solvant corresp.*	*NaOH 2,5 mM en ml*		*(AChE) µmol/ml/mn*		*% Inhibition des cholinestérases*
		Solvant	*Sol.+Fent*	*Solvant*	*Solv+Fent*	
6 $\times 10^{-5}$M	9ml/25ml	580±0,050	560±0,048	2,9	2,8	3,4
1,2$\times 10^{-4}$M	18ml/25ml	530±0,052	490±0,045	2,65	2,45	6,6

Tableau XI - Activité anticholinestérasique du fentanyl base.

Les courbes de neutralisation enregistrées directement avec le solvant seul, et en présence de fentanyl à la plus forte concentration utilisée ont sensiblement la même allure (figure 14).

La quantité de substrat transformée en fonction du temps étant peu modifiée par l'action du fentanyl montre qu'aux concentrations utilisées, ce produit est très légèrement anticholinestérasique.

En conclusion, cette étude confirme et complète les résultats fournis par la méthode manométrique. Tous les analgésiques étudiés possèdent une activité inhibitrice vis-à-vis des cholinestérases érythrocytaires. Les résultats trouvés par cette méthode pourront nous permettre de comparer avec une précision plus grande l'activité de ces différentes substances.

2.3.3.5.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques.

L'activité anticholinestérasique des neuroleptiques surtout dérivés des phénothiazines ayant été de nombreuses fois mise en évidence par plusieurs auteurs in vivo (URBANEK, 1966, JOHANNESSON-LAUSEN, 1961) et in vitro (TODRICK, 1954, UDSIN, 1961, HOFSTEE, 1960) il nous est apparu intéressant de déterminer d'après nos conditions expérimentales les activités vis-à-vis des cholinestérases de l'alimémazine et du déhydrobenzpéridol, neuroleptiques habituellement utilisés en neuroleptanalgésie.

I. Résultats obtenus avec l'alimémazine :

Nous avons utilisé le soluté injectable spécialisé sous le nom de Théralène (R), contenant 5 mg par millilitre d'alimémazine base sous forme de bitartrate et 0,5 mg de sulfite acide de soude. Après avoir constaté que le sulfite de soude ne possédait aucune action vis-à-vis des cholinestérases, nous avons étudié l'activité anticholinestérasique propre de l'alimémazine à 4 concentrations différentes.

Les résultats obtenus reportés dans le tableau ci-après correspondent à la moyenne de cinq mesures effectuées dans les mêmes conditions.

Concentration en alimémazine	*NaOH 2,5 ml1 en ml*	*(AChE) µmol/ml/mn*	*% Inhibition des cholinestérases*
0	0,610± 0,062	3,05	0
$6,7 \times 10^{-5}$ M	0,542± 0,047	2,71	11,2
$1,6 \times 10^{-4}$ M	0,389± 0,053	1,95	36,3
$3,3 \times 10^{-4}$ M	0,287± 0,058	1,43	53
$6,7 \times 10^{-4}$ M	0,147± 0,045	0,74	76

Tableau XII - Activité anticholinestérasique de l'Alimémazine.

Cette inhibition des cholinestérases se traduit par une augmentation de la pente de la courbe de neutralisation obtenue en abaissant la tangente au point zéro.

Cette augmentation est très nettre par exemple pour la concentration de $3,3 \times 10^{-4}$ M en alimémazine ainsi que le montrent les courbes représentées figure 15.

Les vitesses d'hydrolyse de l'acétylcholine pour les deux concentrations extrêmes utilisées sont représentées figure 17.

Comme la chlorpromazine, et la prométhazine, maintes fois étudiées ; l'alimémazine dans la série des phénothiazines est douée d'une activité anticholinestérasique in vitro non négligeable.

II. Résultats obtenus avec le déhydrobenzpéridol.

Les résultats obtenus avec 4 concentrations différentes de déhydrobenzpéridol (nous avons utilisé le soluté injectable spécialisé sous le nom de Droleptan®) sont consignés dans le tableau suivant, chaque valeur correspondant à la moyenne de 5 mesures.

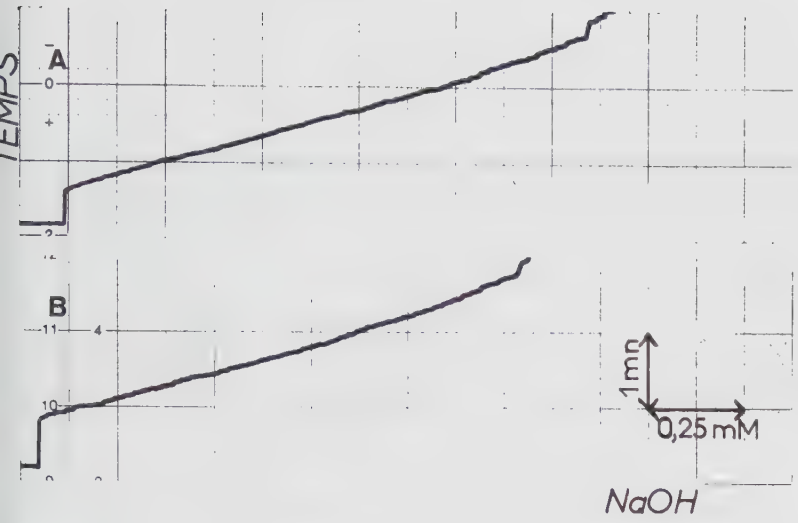


FIGURE 14

A. COURBE TEMOIN

B. FENTANYL $1{,}2 \times 10^{-4}$ M

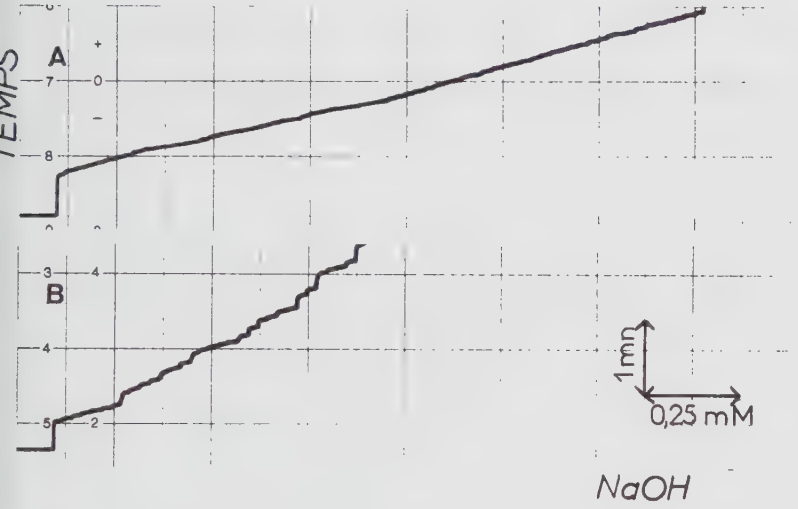


FIGURE 15

A. COURBE TEMOIN

B. ALIMEMAZINE $3{,}3 \times 10^{-4}$ M

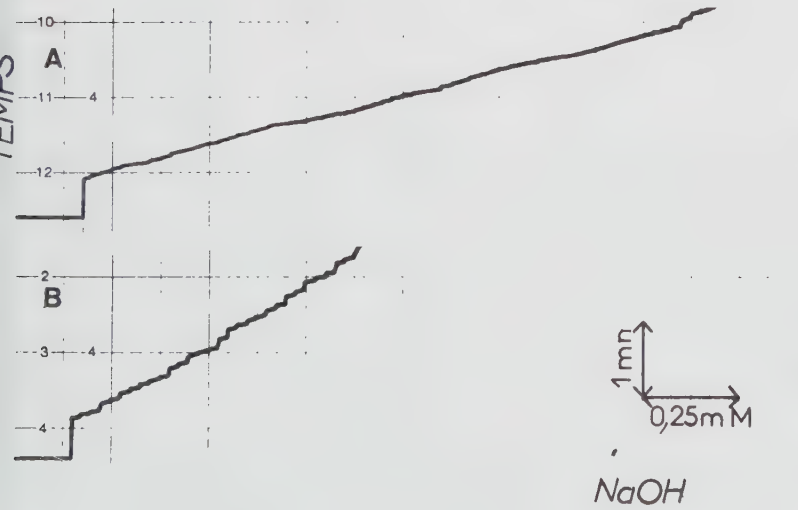


FIGURE 16

A. COURBE TEMOIN

B. DEHYDROBENZPERIDOL $2{,}1 \times 10^{-4}$ M

Concentration en déhydrobenzpéridol	*NaOH 2,5 mM en ml*	*(AChE) µmol/ml/mn*	*% Inhibition des cholinestérases*
0	0,620±0,055	3,1	0
$5,2 \times 10^{-5}$ M	0,454±0,035	2,27	26,8
$1,3 \times 10^{-4}$ M	0,340±0,045	1,7	45,3
$2,1 \times 10^{-4}$ M	0,275±0,040	1,37	57,4
$2,6 \times 10^{-4}$ M	0,222±0,050	1,11	64,2

Tableau XIII - Activité anticholinestérasique du déhydrobenzpéridol.

Comme on peut l'observer sur les courbes représentées figure 16, la courbe de neutralisation obtenue en présence de $2,1 \times 10^{-4}$ M de déhydrobenzpéridol est située nettement au-dessus de la courbe témoin, ce qui témoigne d'une activité évidente de cette substance.

Les vitesses d'hydrolyse pour les deux concentrations extrêmes en déhydrobenzpéridol sont représentées figure 17.

Le déhydrobenzpéridol dans ces conditions se montre le plus anticholinestérasique des deux neuroleptiques étudiés.

En conclusion, comme dans le cas précédent, la méthode titrimétrique confirme et complète les résultats obtenus par la technique de warburg. Cette méthode plus précise, permettra de comparer l'activité anticholinestérasique de ces deux neuroleptiques et de la situer par rapport à celle des analgésiques.

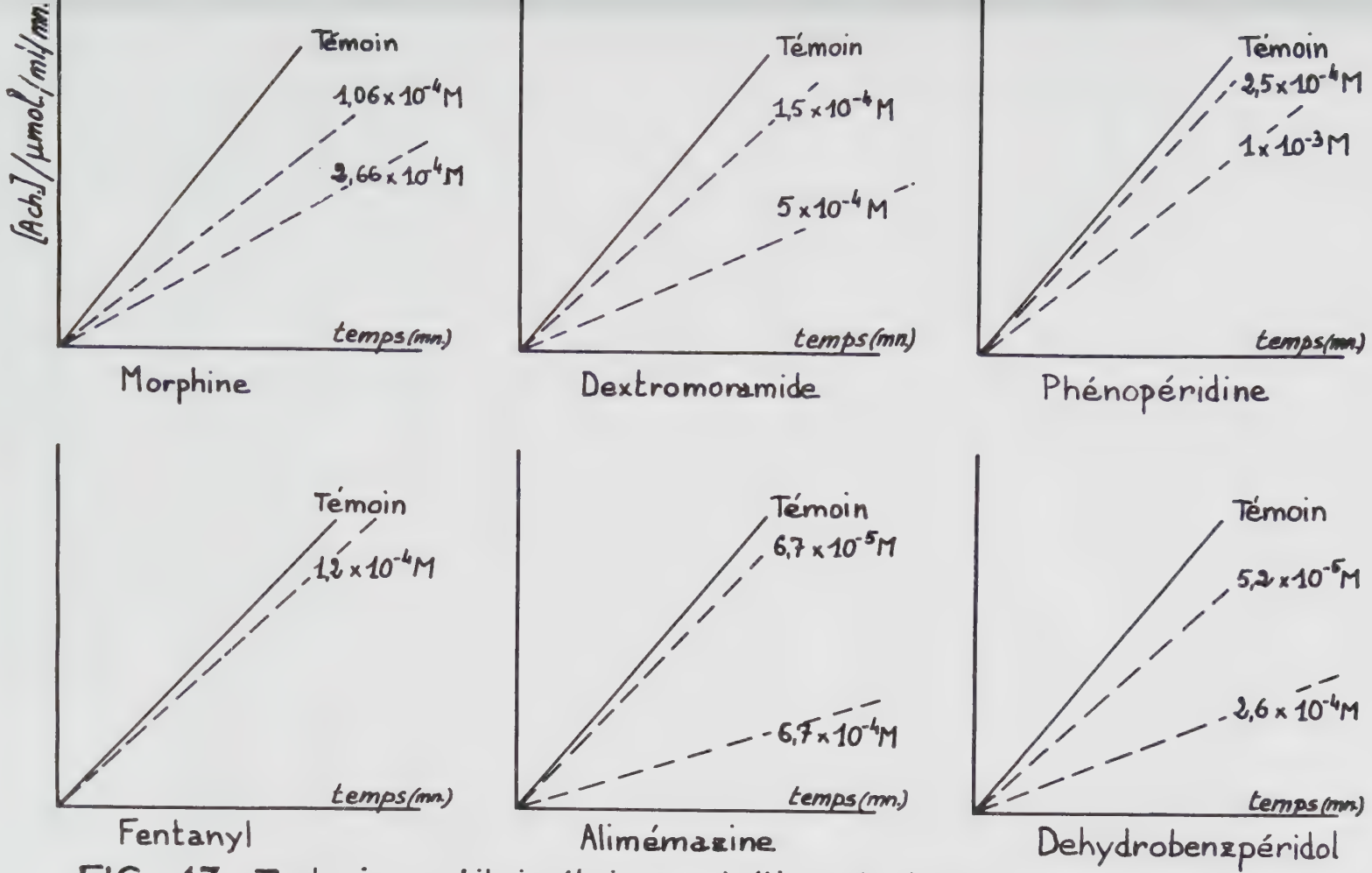


FIG. 17 - Technique titrimétrique : Cinétique de l'action des cholinestérases

2.3.3.5.3. Résultats obtenus avec les associations analgésique-neuroleptique.

Les expérimentations précédentes ayant permis de montrer que les principaux analgésiques et neuroleptiques utilisés couramment en neuroleptanalgésie présentaient tous une activité anticholinestérasique plus ou poins importante ; nous avons essayé de voir ce que donneraient les associations Analgésiques + Neuroleptiques vis-à-vis des cholinestérases sanguines.

Toujours par la même méthode, et dans les mêmes conditions, nous avons étudié les différentes associations possibles en respectant les proportions préconisées en clinique. Les rapports analgésiques/neuroleptiques exprimés en poids sont les suivants :

$$\frac{\text{Dextromoramide}}{\text{Alimémazine}} = \frac{1}{5} \qquad \frac{\text{Phénopéridine}}{\text{Alimémazine}} = \frac{1}{8}$$

$$\frac{\text{Dextromoramide}}{\text{Déhydrobenzpéridol}} = \frac{1}{4} \qquad \frac{\text{Phénopéridine}}{\text{Déhydrobenzpéridol}} = \frac{1}{1}$$

$$\frac{\text{Fentanyl}}{\text{Alimémazine}} = \frac{1}{80}$$

$$\frac{\text{Fentanyl}}{\text{Déhydrobenzpéridol}} = \frac{1}{50}$$

Pour étudier ces différentes associations, nous pouvions pour déterminer les quantités de produit à mettre en présence, soit :

- utiliser l'analgésique à la concentration correspondant à sa I_{50} (*), et lui associer le neuroleptique en quantité fixée par le rapport clinique.
- utiliser le neuroleptique à sa concentration inhibitrice 50, et lui associer les analgésiques en quantité fixée par le rapport clinique.

(*) *I_{50}=concentration en substance qui serait responsable de l'inhibition de 50 pour cent de l'activité des cholinestérases.*

La première solution est impossible à réaliser pour deux raisons : d'une part, les I_{50} de la phénopéridine et du fentanyl sont beaucoup trop importantes, et d'autre part, les concentrations correspondantes en neuroleptiques sont trop actives. Aussi avons-nous opté pour la seconde solution.

Pour chaque association, 3 mesures ont été faites. Les valeurs portées dans les différents tableaux sont les moyennes de ces mesures.

a. Dextromoramide - alimémazine :

Nous avons étudié l'association dextromoramide alimémazine dans la proportion 1/5 utilisée en clinique (*) soit :

0,5 mg de dextromoramide pour
2,5 mg d'alimémazine

Dans tous les cas, nous avons effectué sur un même échantillon de sang, des mesures d'activité cholinestérasique en présence d'alimémazine seule, de dextromoramide seul et de l'association des deux. Les résultats obtenus ont été les suivants :

SUBSTANCES EN mg		*NaOH 2,5 mM en ml*	*(AChE) µmol/ml/mn*	*% Inhibition des Cholinestérases*
Dextrom.	*Aliméma.*			
0	0	0,620	3,1	0
0,5	0	0,600	3	3,2
0	2,5	0,300	1,5	51,6
0,5	2,5	0,286	1,43	53,8

Tableau XIV - Activité anticholinestérasique de l'association dextromoramide-alimémazine.

(*) *rapport en poids des substances bases.*

Il ne semble pas que l'association modifie la somme des activités anticholinestérasiques de chaque constituant.

b. Dextromoramide - déhydrobenzpéridol :

Afin de respecter le rapport $\frac{1}{4}$ préconisé en clinique nous avons associé :

0,5 mg de dextromoramide et
2 mg de déhydrobenzpéridol.

Les résultats obtenus ont été les suivants, les échantillons de sang étant les mêmes que les précédents :

Substances en mg		*NaOH 2,5 mM en ml*	*(AChE) µmol/ml/mn*	*% inhibition des Cholinestérases*
Dextrom.	*Déhydrob*			
0	0	0,620	3,1	0
0,5	0	0,600	3	3,2
0	2	0,268	1,34	56,8
0,5	2	0,254	1,27	59

Tableau XV - Activité anticholinestérasique de l'association dextromoramide - déhydrobenzpéridol.

L'association du débydrobenzpéridol au dextromoramide ne modifie pas l'activité que manifeste chaque constituant vis-à-vis des cholinestérases.

c. Phénopéridine - alimémazine :

Nous avons respecté le rapport clinique $\frac{1}{8}$ en utilisant :

0,4 mg de phénopéridine avec
2,5 mg d'alimémazine.

La phénopéridine étant utilisée en trop faible concentration, nous n'avons pas jugé utile de déterminer à cette dose son activité vis-à-vis des cholinestérases.

Les valeurs trouvées ont été les suivantes :

Substances en mg		*NaOH 2,5 mM en ml*	*(AChE) µmol/ml/mn*	*% inhibition des cholinestérases*
Phénop.	*Alimém.*			
0	0	0,600	3	0
0	2,5	0,280	1,4	53,3
0,4	2,5	0,275	1,37	54,1

Tableau XVI - Activité anticholinestérasique de l'association phénopéridine - alimémazine.

L'activité anticholinestérasique de l'association correspond sensiblement à celle du neuroleptique.

d. phénopéridine - déhydrobenzpéridol :

Le rapport clinique de l'association étant de $\frac{1}{1}$ nous avons mis en présence :

2 mg de phénopéridine et
2 mg de déhydrobenzpéridol.

La quantité en phénopéridine n'étant pas négligeable, il nous a paru normal de vérifier son activité anticholinestérasique.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Substances en mg		*NaOH 2,5 mM en ml*	*(AChE) µmol/ml/mn*	*% inhibition des Cholinestérases*
Phénop	*Déhydrob.*			
0	0	0,580	2,9	0
2	0	0,556	2,78	4,1
0	2	0,260	1,3	55,1
2	2	0,241	1,2	58,4

Tableau XVII - Activité anticholinestérasique de l'association phénopéridine - déhydrobenzpéridol.

L'activité anticholinestérasique de l'association correspond sensiblement à la somme de celle de chaque constituant.

e. fentanyl - alimémazine :

Nous avons respecté le rapport clinique $\frac{1}{80}$ en utilisant :

0,03 mg de fentanyl avec
2,5 mg d'alimémazine.

A cette dose là le fentanyl ne présentant aucune activité nous n'avons pas jugé utile de l'étudier seul.

Nous avons trouvé les valeurs suivantes :

Substances en mg		*NaOH 2,5 mM en ml*	*(AChE) µmol/ml/mn*	*% inhibition des cholinestérases*
Fentanyl	*Alimém.*			
0	0	0,620	3,1	0
0	2,5	0,294	1,47	52,5
0,03	2,5	0,297	1,48	52

Tableau XVIII - Activité anticholinestérasique de l'association fentanyl - alimémazine.

L'activité anticholinestérasique manifestée est celle due à l'alimémazine.

f. fentanyl - déhydrobenzpéridol :

Les proportions utilisées en clinique étant de $\frac{1}{50}$ nous avons associé :

0,04 mg de fentanyl
à 2 mg de déhydrobenzpéridol

Cette faible dose de fentanyl ne présentant vraisemblablement aucune activité anticholinestérasique nous n'avons effectué que 3 mesures différentes par échantillon de sang. Elles sont reportées dans le tableau ci-après :

Substances en mg		NaOH 2,5mM en ml	(AChE) µmol/ml/mn	% Inhibition des Cholinestérases
Fentanyl	déhydrob.			
0	0	0,600	3	0
0	2	0,268	1,34	56,3
0,04	2	0,264	1,32	56

Tableau XIX - Activité anticholinestérasique de l'association fentanyl-déhydrobenzpéridol.

L'activité anticholinestérasique de l'association est celle manifestée par le déhydrobenzpéridol seul.

g. conclusion.

Les résultats précédents montrent que l'association d'alimémazine et de déhydrobenzpéridol aux analgésiques étudiés, dans les mêmes rapports de doses que ceux utilisés en Neuroleptanalgésie n'entraîne aucune modification de l'activité anticholinestérasique, ni potentialisation ni antagonisme.

L'inhibition des cholinestérases par ces différentes associations correspond à l'addition des inhibitions respectives dues aux différents constituants utilisés aux mêmes concentrations.

2.3.4. DISCUSSION DES RESULTATS.

Nous avons reporté dans le tableau ci-après les pourcentages d'inhibition des cholinestérases déterminés par la technique manométrique avec les substances analgésiques et neuroleptiques utilisées à une seule concentration

Substances	*(conc) utilisées*	*Pourcentage d'inhibition des cholinesté-rases*
Morphine	$4,8 \times 10^{-4}$M	60 p. 100
Dextromoramide	$9,1 \times 10^{-4}$M	70 p. 100
Phénopéridine	$17,8 \times 10^{-4}$M	35 p. 100
Fentanyl	$1,07 \times 10^{-4}$M	5 p. 100
Alimémazine	6×10^{-4}M	60 p. 100
Déhydrobenzpéridol	$3,8 \times 10^{-4}$M	65 p. 100

Tableau XX - Activités anticholinestérasiques déterminées par la méthode manométrique.

Ce tableau permet de dire que toutes les substances étudiées possèdent une activité anticholinestérasique, encore que celle présentée par le fentanyl ne soit pas significative comme le montrent les valeurs calculées de l'écart type $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma (xi - m)^2}{n - 1}}$ qui sont inscrites dans le tableau IV et reportées figure 8.

Nous pouvons aussi, en tenant compte des concentrations utilisées, classer ces substances par ordre d'activité anticholinestérasique décroissant. Cela donnerait :

Déhydrobenzpéridol > Morphine > Alimémazine > Dextromoramide > Phénopéridine et Fentanyl.

Nous ne pouvons cependant pas affirmer au vu de ces résultats que le fentanyl est dénué d'activité, ou qu'il est plus actif que la phénopéridine que nous avons utilisée à concentration 17 fois supérieure.

Ces présomptions peuvent être confirmées par la technique titrimétrique qui, en utilisant ces mêmes substances à concentrations différentes nous a permis d'évaluer leur activité de façon plus rigoureuse.

Selon DEWEY et ses collaborateurs (1969) nous avons tracé sur du papier Log Probabilité à partir des valeurs trouvées, les courbes représentant pour chaque substance les pourcentages d'inhibition des cholinestérases observés en fonction de leurs concentrations utilisées.

A partir de ces courbes (figure 18) nous avons déterminé pour chaque analgésique et neuroleptique la valeur de leur I_{50} , c'est à dire leur concentration qui serait responsable de l'inhibition de 50 pour 100 de l'activité des cholinestérases. La connaissance des I_{50} nous permet de les comparer entre eux quant à leur activité. Nous avons choisi la morphine comme élément de comparaison. Les résultats trouvés sont compilés dans le tableau suivant :

Substances	I_{50}	*Activités anticholinestérasiques comparées à la morphine*
Morphine	$2,3 \times 10^{-4}$M	100
Dextromoramide	$3,7 \times 10^{-4}$M	62
Phénopéridine	2×10^{-3}M	11
Fentanyl	$2,75 \times 10^{-3}$M	8,5
Alimémazine	$2,7 \times 10^{-4}$M	85
Dehydrobenzpéridol	$1,5 \times 10^{-4}$M	153

Tableau XXI - I_{50} des analgésiques et neuroleptiques déterminées par titrimétrie.

Nous avons exprimé ces activités sous forme graphique (graphique 1).

Le déhydrobenzpéridol apparaît là encore comme la substance la plus anticholinestérasique. Pour obtenir la même inhibition qu'avec la morphine, il faut mettre en jeu les quantités suivantes :

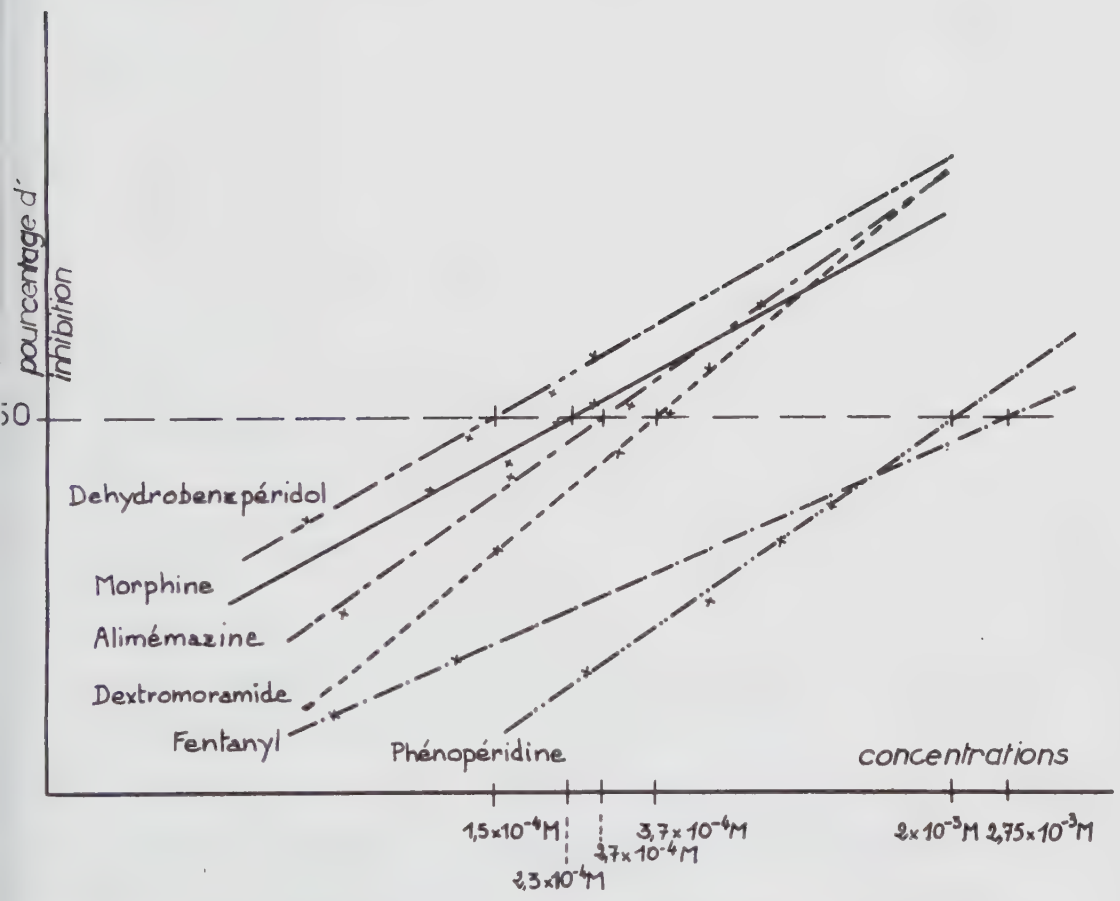


Figure 18 - I_{50} des analgésiques et neuroleptiques déterminées sur papier LOG PROBABILITE.

Dehydrobenzpéridol : 1,5fois moins environ,
Alimémazine : 1,2 fois plus,
Dextromoramide : 1,5 fois plus,
Phénopéridine et fentanyl environ 10 fois plus.

Ces courbes peuvent aussi permettre de comparer les activités anticholinestérasiques des seuls analgésiques utilisés en neuroleptanalgésie, en tenant compte de leurs activités équianalgésiques.

La morphine étant inusitée dans ce cas, nous avons en considérant les rapports d'utilisation thérapeutique prescrits par SABATHIE (1964) déterminé les concentrations en phénopéridine ($2,96 \times 10^{-4}$ M) et fentanyl ($3,7 \times 10^{-5}$ M) correspondant à l'activité inhibitrice 50 du dextromoramide ($3,7 \times 10^{-4}$ M). Les inhibitions obtenues pour ces concentrations sont reportées dans le tableau suivant :

Substances	*Rapports d'utilisation thérapeutique*	*Concentrations correspondant à la I_{50} du dextromoramide*	*Pourcentage d'inhibition*
Dextromoramide	1	$3,7 \times 10^{-4}$M	50
Phénopéridine	0,8	$2,96 \times 10^{-4}$M	7
Fentanyl	0,1	$3,7 \times 10^{-5}$M	2

Tableau XXII - Activités anticholinestérasiques à dose équianalgésiques des analgésiques utilisés en neuroleptanalgésie.

Ces inhibitions reportées sous forme graphique (graphique 2) montrent qu'à dose équianalgésique, le dextromoramide est environ 7 fois plus anticholinestérasique que la phénopéridine, et 25 fois plus que le fentanyl.

Si l'on admet à partir des résultats trouvés par la technique titrimétrique (diagramme en coordonnées cartésiennes représentant le pourcentage d'inhibition des cholinestérases en ordonnée en fonction de la concentration en analgésique en abscisse) que la ligne qui joint les points est

une droite, on peut estimer que le pourcentage d'inhibition des cholinestérases est approximativement proportionnel à la concentration en inhibiteur utilisée, nous pouvons à partir des inhibitions trouvées par la méthode manométrique déterminer par le calcul les I_{50} des produits étudiés.

Ces valeurs nous permettant de comparer entre elles les activités des analgésiques et des neuroleptiques sont compilées dans le tableau XXIII. Etant donnée la signification des résultats obtenus avec le fentanyl, nous ne l'avons pas fait figurer dans ce tableau :

Substances	I_{50}	*Activité anticholinestérasiques comparées à la morphine*
Morphine	4×10^{-4} M	100
Dextromoramide	$6,5 \times 10^{-4}$ M	61
Phénopéridine	25×10^{-4} M	16
Alimémazine	5×10^{-4} M	79
Déhydrobenzpéridol	$2,9 \times 10^{-4}$ M	138

Tableau XXIII - I_{50} des analgésiques et neuroleptiques déterminées par la méthode manométrique.

Les activités anticholinestérasiques de ces substances, comparées à celle de la morphine sont reportées sous forme graphique (graphique 1).

La lecture de cet histogramme montre bien que malgré les conditions expérimentales très différentes existant entre les deux méthodes utilisées (principe différent, concentrations en enzyme, substrat et inhibiteur différentes temps de contact enzyme-substrat incomparable), il nous est permis non seulement de classer dans le même ordre les analgésiques et neuroleptiques étudiés quant à leur activité vis-à-vis des cholinestérases, mais encore de leur attribuer dans les deux cas des activités de même ordre.

De plus, alors que certains auteurs avaient considéré l'existence d'un parallélisme entre activité analgésique et anticholinestérasique nous n'avons, en accord avec les résultats de YOUNG et coll. (1955) et FOLDES et coll. (1959) retrouvé aucun rapport entre ces deux activités.

Par contre, il nous est permis de constater l'existence d'une similitude entre l'activité,anticholinestérasique de ces produits et les effets cholinergiques dont ils sont responsables en clinique (figures 1, 2, 3, 4, représentées dans les généralités), et expérimentalement dans certaines préparations (bronchospasme chez le cobaye et stimulation du vague décrits dans la thèse de DUMARTIN (1967)). Ces faits montrent l'importance de l'inhibition des cholinestérases dans l'apparition des phénomènes cholinergiques et confirme la possibilité d'une activité périphérique dont nous avions soupçonné l'existence.

2.3.5. CONCLUSIONS .

Pour comparer les activités anticholinestérasiques de la morphine, du dextromoramide, de la phénopéridine, du fentanyl et de l'alimémazine et du déhydrobenzpéridol, nous avons fait appel à deux techniques différentes dans leur principe : une technique manométrique dérivée de celle d'AMMON et une technique titrimétrique basée sur le maintien constant du pH. Ces deux méthodes nous ont donné des résultats comparables, mais, ce sont ceux surtout obtenus par titrimétrie que nous avons retenu, cette technique s'étant révélée la plus sensible.

Les analgésiques et neuroleptiques étudiés présentent tous in vitro une activité inhibitrice vis-à-vis des acétylcholinestérases érythrocytaires ; cette activité augmentant en fonction de l'accroissement des doses.

Par ordre d'activité décroissante, nous pouvons les classer ainsi : déhydrobenzpéridol > morphine > alimémazine > dextromoramide > phénopéridine > fentanyl.

Le déhydrobenzpéridol s'est révélé une fois et demie plus anticholinestérasique que la morphine elle même environ 1, 2 fois plus inhibitrice que l'alimémazine,

1,5 fois plus que le dextromoramide et 10 fois supérieure à la phénopéridine et au fentanyl.

Ce même classement ayant été établi par deux méthodes utilisant pourtant des conditions expérimentales différentes, augure de la validité des résultats trouvés.

- Il semble bien qu'il n'y ait aucune relation entre l'action analgésique de ces substances et leur pouvoir anticholinestérasique ; mais qu'il existe par contre un rapport direct entre cette dernière activité et l'intensité des effets cholinergiques observés.

- L'activité cholinergique périphérique envisagée dans le chapitre 1.1. semble pouvoir en partie être rattachée à ce mode d'action.

---°---

TROISIEME PARTIE

ACTION INHIBITRICE DE CES MEDICAMENTS SUR LE SYSTEME CHOLINERGIQUE

3.1. ACTION DES ANALGESIQUES ET NEUROLEPTIQUES SUR LES RECEPTEURS CHOLINERGIQUES DE LA FIBRE MUSCULAIRE LISSE

3.1.1. INTRODUCTION .

Alors qu'in vivo, ces analgésiques provoquent une augmentation de la motricité intestinale, les essais effectués in vitro avec ces mêmes substances sur des fragments d'intestin isolé mettent en évidence des propriétés relaxantes.

En effet, de même que de nombreux auteurs (TRENDELENBURG 1917, SCHAUMANN 1955, KOSTERLITZ et ROBINSON 1957) ont montré que la morphine inhibait le reflexe péristaltique et s'opposait à l'action contracturante de l'acétylcholine sur l'iléon isolé de cobaye ; de même DUMARTIN (1967) opérant selon la technique classique de MAGNUS sur le duodénum isolé de rat a observé que :

a) le dextromoramide, la phénopéridine et le fentanyl utilisés à des concentrations de l'ordre de 5×10^{-8} g/ml à $2,5 \times 10^{-7}$ g/ml sont à l'origine d'un relâchement du tonus intestinal.

b) ces mêmes substances se montrent douées d'activité anticontracturante vis-à-vis des effets de l'acétylcholine et du chlorure de Baryum à des concentrations de l'ordre de $2,5 \times 10^{-7}$ g/ml à 5×10^{-7} g/ml.

Le mécanisme de cette inhibition dans le cas de la morphine a été très discuté. Son action dépressive est généralement expliquée par une action au niveau des structures

nerveuses de la paroi intestinale (SCHAUMANN, 1956 a, 1956 b, 1959 et KOSTERLITZ-ROBINSON 1958).

Ceci semble confirmé par le fait que la morphine s'oppose à l'action des substances contractant l'intestin par stimulation de ces structures nerveuses (SCHAUMANN,1957 KOSTERLITZ 1958, GADDUM-PICARELLI,1957, KOSTERLITZ-ROBINSON et TAYLOR, 1957).

En effet, il a été montré que pour de faibles concentrations (0,05 à 0,1 µg/ml) la morphine inhibe fortement les contractions de l'iléon isolé provoquées par la nicotine, le baryum et la 5HT, (substances stimulant les éléments nerveux innervant les fibres musculaires) ; alors qu'elle modifie très peu les réponses à l'acétylcholine, au carbachol et à l'histamine (substances dont l'action se situe principalement au niveau des fibres musculaires).

Nous inspirant des constatations de ces auteurs sur la morphine, nous avons voulu déterminer le mode d'action de nos substances analgésiques étudiées. L'alimémazine et le dropéridol possédant aussi des propriétés spasmolytiques sur l'intestin isolé, nous les avons étudié de la même façon que les analgésiques.

3.1.2. ESSAIS SUR L'ILEON ISOLE DE COBAYE STIMULE PAR DES EXCITANTS CHIMIQUES.

3.1.2.1. TECHNIQUE OPERATOIRE.

Elle est classique. L'iléon de cobaye à jeun depuis 24 heures est suspendu dans une cuve à organes isolés (contenance 20 ml) dans un liquide de survie de Tyrode, oxygéné par "bullage" d'oxygène pur et maintenu à température constante (37°) par un bain-marie thermostaté.

Nous avons effectué dans ces conditions 3 essais différents.

3.1.2.1.1. Essai I : Activité des analgésiques et neuroleptiques vis-à-vis des actions contracturantes de la nicotine et de l'acétylcholine.-

- Dans un premier essai, nous avons étudié l'activité des morphine, dextromoramide, phénopéridine, fentanyl, alimémazine et dropéridol vis-à-vis des actions contracturantes de la nicotine et de l'acétylcholine.

Pour cela, la substance étudiée est ajoutée dans le bac 1 minute avant l'addition de nicotine ; trois minutes après l'action de la nicotine, l'iléon ayant récupéré spontanément son tonus de base, on ajoute l'acétylcholine.

3.1.2.1.2. Essai II : Action d'un tyrode contenant l'analgésique en solution.

- Après avoir enregistré la hauteur de contractions provoquées par l'acétylcholine, lorsque l'iléon baigne dans un liquide de tyrode normal, nous avons déterminé la hauteur des contractions obtenues avec les mêmes doses d'acétylcholine lorsque l'iléon baigne dans un liquide de tyrode contenant du dextromoramide à une concentration entraînant habituellement une légère diminution des réponses à l'acétylcholine (5×10^{-7} g/ml).

3.1.2.1.3. Essai III : pA_2 des analgésiques et neuroleptiques vis-à-vis de la nicotine.

- Dans un troisième essai, nous avons évalué l'activité de ces substances afin de les comparer, dans le cas où l'iléon est stimulé par la nicotine. Pour cela nous avons déterminé les valeurs de leur pA_2 (*) vis-à-vis de la contraction nicotinique.

(*) pA_2 = *Logarithme changé de signe de la concentration molaire de l'antagoniste qui réduit l'effet de la dose de drogue active à l'effet de la dose* $\frac{d}{2}$.

Dans tous les cas, chaque essai de substance antagoniste a été encadré avant et après par une mise en contracture de contrôle pour apprécier le plus exactement possible l'importance de son activité.

3.1.2.2. RESULTATS.

3.1.2.2.1. Premier essai : Activité des analgésiques et neuroleptiques vis-à-vis des contractions provoquées par la nicotine et l'acétylcholine.

A) Les analgésiques .

a. Morphine :

Utilisée à des concentrations de l'ordre de 3×10^{-8} g/ml, nous retrouvons les mêmes résultats que LEWIS (1960), à savoir qu'à ces concentrations, la morphine inhibe fortement la contraction nicotinique alors que la réponse à l'acétylcholine reste la même. Il faut atteindre des concentrations très supérieures (1×10^{-6} g/ml , 1×10^{-5} g/ml) pour inhiber la contracture acétylcholinique d'environ 30 pour 100.

b. Dextromoramide :

Dans les mêmes conditions, à des concentrations de 1×10^{-8} g/ml le dextromoramide se montre fortement antagoniste de la nicotine (90 %) alors qu'il ne s'oppose pas du tout aux effets contracturants de l'acétylcholine. (WEBER, LABORIT, 1968)(voir Figure 19).

Il est nécessaire de multiplier par 10 ou 100 les concentrations en dextromoramide pour observer une inhibition importante de la réponse à l'acétylcholine (50 %).

c. Phénopéridine :

Pour des concentrations de même ordre, nous obtenons les mêmes résultats, soit :

- Inhibition presque totale de la réponse nicotinique sans modification nette de celle due à l'acétylcholine.

- Inhibition de la réponse à l'acétylcholine n'apparaissant que pour des concentrations en phénopéridine beaucoup plus élevées (5×10^{-6} g/ml → 40 % d'inhibition).

d. Fentanyl :

Pour des concentrations encore plus faibles que dans les cas des autres analgésiques (5×10^{-9} g/ml), nous obtenons toujours une inhibition importante de la réponse à la nicotine (90 %) alors qu'il en faut 100 fois plus pour inhiber nettement les réponses à l'acétylcholine.

B) Les neuroleptiques.

a. Alimémazine :

A des concentrations de l'ordre de 2 à 3×10^{-8} g/ml la contraction nicotinique est faiblement modifiée alors que la réponse à l'acétylcholine est diminuée de 20 pour 100. (Figure 19).

b. Dehydrobenzpéridol :

Comme l'alimémazine, le dropéridol à des concentrations de 1 à 5 $\times 10^{-7}$ g/ml modifie peu la réponse à la nicotine, alors que celle de l'acétylcholine est diminuée de 30 pour 100 environ.

C) Conclusions.

Les résultats obtenus avec les analgésiques permettent d'émettre les mêmes suggestions que LEWIS quant à leur mécanisme d'action au niveau de la musculature lisse de l'intestin. Ils se comporteraient comme la morphine, c'est-à-dire agiraient principalement au niveau des fibres nerveuses innervant les fibres musculaires lisses en diminuant la quantité d'acétylcholine libérée par excitation des fibres postganglionnaires. Nous avons constaté par ailleursque des doses plus importantes inhibaient la contraction due à l'acétylcholine.

Les neuroleptiques quant à eux agissent principalement au niveau de la fibre musculaire lisse, en bloquant les sites récepteurs spécifiques de l'acétylcholine.

3.1.2.2.2. Deuxième essai : Action d'un tyrode contenant l'analgésique en solution.

Après plusieurs lavages de l'iléon(environ 10 ou 15 espacés de 2 minutes 30) par le tyrode contenant le dextromoramide, les effets contracturants de l'acétylcholine sont légèrement amplifiés (20 p.100 environ). Ce résultat semble devoir être rattaché à l'activité anticholinestérasique montrée précédemment (Figure 20).

Par contre, le fait que cette même dose d'analgésique provoque dans les conditions normales d'utilisation, une diminution de la réponse à l'acétylcholine montre qu'il n'entraîne pas un blocage spécifique des récepteurs cholinergiques périphériques.

Cette diminution doit plutôt être rattachée à l'activité montrée lors du premier essai si l'on admet que l'acétylcholine stimule à la fois les structures nerveuses (FELDBERG, 1951, EVANS et coll. 1952, DAY et VANE , 1963) et les récepteurs de la fibre lisse ; on peut aussi envisager une action de ces produits sur les quantas d'acétylcholine libérés normalement quand l'iléon est au repos et qui concourent à lui conserver un certain tonus (LEWIS 1960).

3.1.2.2.3. Troisième essai : Evaluation de l'activité antinicotinique des analgésiques et neuroleptiques par détermination de leur pA_2 .

A) Les Analgésiques.

Nous avons déterminé pour chaque analgésique les valeurs de leur pA_2 dans le cas où l'iléon isolé est seulement soumis à l'action contracturante de la Nicotine. Les valeurs de ces pA_2 sont reportées dans le tableau suivant :

Analgésiques	*(Conc) en Analgésiques responsables de* pA_2 *(g/ml)*	pA_2
Morphine	$2,5 \times 10^{-8}$	7,17
Dextromoramide	$7,5 \times 10^{-9}$	7,71
Phénopéridine	$1,25 \times 10^{-8}$	7,50
Fentanyl	2×10^{-9}	8,20

La substance la plus active étant celle qui a la pA_2 la plus élevée, la classification des analgésiques par ordre d'activité antinicotinique décroissante est la suivante :

fentanyl > dextromoramide > phénopéridine > morphine.

B. Les neuroleptiques :

La détermination des pA_2 dans les cas de l'alimémazine et du dropéridol s'est révélée sans aucune signification. En effet, l'inhibition de la contraction nicotinique par ces substances utilisées même à forte concentration n'est souvent que partielle, et ne varie pas en fonction des doses utilisées.

C. Conclusion.

Les analgésiques, à l'opposé des neuroleptiques agissent au niveau des structures nerveuses stimulées par la nicotine et empêchent celle-ci de libérer l'acétylcholine qui contractera la fibre musculaire lisse. Par ordre d'activité décroissante inhibitrice de la libération d'acétylcholine, on trouve :

fentanyl > dextromoramide > phénopéridine > morphine.

3.1.2.3. CONCLUSIONS.

L'action inhibitrice de ces analgésiques vis-à-vis de la contraction provoquée par l'acétylcholine ne semble pas devoir être rattachée à une activité parasympatholytique contrairement à celle des neuroleptiques. Les analgésiques ne bloquent pas les récepteurs cholinergiques de la fibre musculaire lisse, ils agissent au niveau de la fibre nerveuse postganglionnaire en empêchant la libération d'acétylcholine produite normalement ou par stimulation de ces structures nerveuses.

3.1.3. ESSAIS SUR L'ILEON ISOLE DE COBAYE STIMULE ELECTRIQUEMENT.

3.1.3.1. INTRODUCTION.

Les essais précédents ont permis de montrer que l'action principale des analgésiques morphinomimétiques vis-à-vis des récepteurs cholinergiques de la fibre musculaire lisse n'est pas de s'opposer à l'action de l'acétylcholine libérée , mais d'empêcher la libération de l'acétylcholine présynaptique. Afin de déterminer avec plus de précision, l'activité de ces substances sur les fibres postganglionnaires cholinergiques, nous avons étudié leur action sur l'iléon isolé de cobaye stimulé électriquement selon la technique de PATON (1955).

3.1.3.2. MATERIEL ET METHODE.

Nous avons utilisé une éprouvette à organes isolés de 100 ml. placée dans une cuve thermostatée à 37° où baignent deux électrodes.

L'électrode de stimulation qui traverse la lumière de l'iléon est constituée d'un fil de platine scellé dans un tube de verre coudé, dirigé vers le haut, dépassant d'environ 5 centimètres et recouvert d'un fin polythène percé de trous. Cette électrode est aussi appelée "Lumen électrode"

L'autre électrode est formée par un simple fil de platine plongeant dans l'éprouvette.

Ces deux électrodes sont branchées sur la sortie d'un Neurostimulateur Type GL 260 T de marque Racia.

L'iléon est maintenu en survie dans du liquide de Krebs dont la composition est la suivante :

- Chlorure de Sodium..... 70 g
- Chlorure de Potassium..... 3,5 g
- Chlorure de Calcium..... 2,8 g
- Chlorure de Magnésium..... 3 g
- Phosphate monosodique..... 1,6 g
- Carbonate acide de sodium 1,05 g
- Glucose..... 1 g
- Eau distillée q.s.p..... 1 litre

et, dans lequel on fait dégager un courant gazeux de carbogène à 5 pour 100 de CO_2.

Nous utilisons des cobayes mâles ou femelles, pesant entre 300 et 450 grammes. Après les avoir assommés et saignés nous prélevons environ 4 centimètres d'iléon que nous montons sur l'électrode de stimulation.

Une extrémité de l'iléon, est fixée au tube porteur de l'électrode par un crochet latéral ; l'autre extémité est reliée à un stylet inscripteur. L'amplitude des contractions est enregistrée sur un cyclindre noirci animé d'un mouvement uniforme.

L'organe est excité par des chocs rectangulaires de 0,5 milliseconde de largeur, délivrés par le neurostimulateur toutes les 10 secondes. Le voltage est réglé de façon à obtenir une réponse maximale de 3 à 5 centimètres de hauteur ; nous l'avons fait varier entre 5 et 15 volts lors des différentes expérimentations.

Les analgésiques et neuroleptiques étudiés sont maintenus 3 minutes en contact avec l'iléon. Après chaque addition de substance ; on effectue deux lavages espacés de 10 minutes, la stimulation étant arrêtée pour mettre l'iléon au repos. Cinq minutes après le deuxième lavage, la stimulation est reprise. On peut alors ajouter une nouvelle substance à étudier.

3.1.3.3. CALCULS.

Les quantités de produits utilisées sont exprimées en molécule gramme de base par litre.

Les concentrations produisant au bout de 3 minutes une diminution de 50 pour 100 de l'amplitude des contractions de départ sont appelées doses efficaces 50 = DE 50 ; elles sont déterminées sur papier Log-probabilité en portant les pourcentages moyens d'inhibition en fonction du logarithme des doses utilisées.

3.1.3.4. RESULTATS.

3.1.3.4.1. Résultats obtenus avec les analgésiques.

Morphine :

L'activité de la morphine, substance nous servant de référence pour l'étude des analgésiques a déjà été déterminée par de nombreux auteurs (PATON 1957, COX 1966, DE LA LANDE 1967, GYANG et KOSTERLITZ 1966)

En opérant selon la méthode décrite, nous avons trouvé pour cette substance une D.E. 50 de $9,6 \times 10^{-11}$ M.

Dextromoramide :

Dans les mêmes conditions, le dextromoramide s'est révélé 11 fois plus actif que la morphine ; la concentration responsable d'une inhibition de 50 pour 100 de l'amplitude des contractions de l'iléon stimulé étant de : $8,6 \times 10^{-12}$ M (voir figure 21).

Phénopéridine :

Sensiblement plus active que le dextromoramide, la phénopéridine est environ 13 fois plus puissante dans ces conditions que la morphine. La D.E. 50 obtenue pour cette substance est de : $7,4 \times 10^{-12}$ M.

Fentanyl :

Le fentanyl se montre dans ces conditions expérimentales, le plus actif de tous les analgésiques essayés. Il est 73 fois plus inhibiteur que la morphine. Sa dose efficace 50 est de l'ordre de la picomole : $1,3 \times 10^{-12}$ M.

Tous ces résultats sont consignés dans le tableau XXIV.

3.1.3.4.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques.

Alimémazine :

L'alimémazine douée d'une activité spasmolytique in vitro importante inhibe aussi les contractions obtenues par stimulation de l'iléon mais à des concentrations très supérieures à celles des analgésiques. Sa dose efficace 50 est de : 1×10^{-9} M.

Déhydrobenzpéridol :

Le dropéridol, beaucoup moins actif que l'alimémazine vis-à-vis des effets contracturants de l'acétylcholine sur les préparations musculaires isolées classiques, se révèle aussi environ 6 fois moins inhibiteur des contractions obtenues par stimulation électrique.

Nous avons obtenu pour cette substance une D.E. 50 de $5,8 \times 10^{-9}$ M.

3.1.3.5. DISCUSSION DES RESULTATS.

- Tous les analgésiques considérés réduisent l'amplitude de la contraction de l'iléon isolé de cobaye, produite par la stimulation électrique. Les concentrations actives sont faibles de l'ordre de la nanomole et même de la picomole par litre.

- Par ordre d'activité décroissante leur classement est le suivant :

Fentanyl > Phénopéridine > Dextromoramide > Morphine.

- Dans tous les cas, le degré d'inhibition augmente avec les concentrations en substance utilisées (Figure 21).

- Cette diminution de l'amplitude des contractions peut être due :

. soit à une réduction de la libération d'acétylcholine au niveau des terminaisons nerveuses;

. soit à un antagonisme compétitif avec l'acétylcholine au niveau des récepteurs spécifiques.

. soit à un effet direct sur le muscle lui-même.

Afin de déterminer quel est le mécanisme qui intervient , nous avons opéré selon la méthode de PATON (1957). Il suffit de vérifier que la réponse de l'iléon à une dose d'acétylcholine introduite dans le bac après stimulation en présence de substance analgésique est bien identique à celle obtenue avant addition de cette substance.

Dans tous les cas l'action de l'acétylcholine ajoutée au bain ne semble pas modifiée comme le montre la Figure 22, ce qui exclue pour les analgésiques la possibilité à ces doses là :

- d'antagoniser l'acétylcholine après sa libération,
- d'exercer une action directe sur le muscle.

On peut donc admettre que le dextromoramide, la phénopéridine et le fentanyl réduisent comme la morphine, la production d'acétylcholine par les terminaisons nerveuses parasympathiques.

Cette propriété de la morphine a d'ailleurs été montrée par d'autres auteurs (COX et WEINSTOCK 1966, J.S. DE LA LANDE 1967, SCHAUMANN 1959, etc...) en utilisant des méthodes différentes.

Pour confirmer cette action COX et WEINSTOCK ont mis en évidence l'existence d'un rapport étroit entre l'inhibition des contractions de l'iléon stimulé et la libération d'acétylcholine dans le milieu par action de la morphine à concentrations différentes, et SCHAUMANN (1959) a montré que l'action de la morphine sur la libération d'acétylcholine se situe au niveau des fibres nerveuses cholinergiques postganglionnaires.

- Dans un autre ordre d'idée, PATON (1957), COX (1966), FENESSY (1969) étudiant l'activité antiacétylcholinolibératrice d'analgésiques narcotiques dérivant de la morphine constatèrent l'existence d'une analogie entre leur capacité d'inhiber la libération d'acétylcholine et leur pouvoir analgésique.

A partir des doses efficaces 50 trouvées avec les différents analgésiques, nous avons déterminé leur activité sur ce test par rapport à la morphine (tableau XXIV).

Dans la colonne 3 du même tableau, nous avons inscrit les rapports de leurs puissances analgésiques comparées à celle de la morphine prise comme étalon (SABATHIE 1964).

Substances	*D.E. 50 en mol.g/l*	*Activité sur la libération d'Ach. comparée à la morphine*	*Activité analgésique comparée à la morphine*
Morphine	$9,6 \times 10^{-11}$ M	1	1
Dextromoramide	$8,6 \times 10^{-12}$ M	11	15
Phénopéridine	$7,4 \times 10^{-12}$ M	13	20 à 30
Fentanyl	$1,3 \times 10^{-12}$ M	73	80 à 100
Alimémazine	1×10^{-9} M		
Déhydrobenzpéridol	$5,8 \times 10^{-9}$ M		

Tableau XXIV - Activité des analgésiques et neuroleptiques vis-à-vis de la contraction provoquée par stimulation électrique de l'iléon isolé de cobaye.

L'étude de ce tableau nous permet de constater que non seulement les substances les plus actives dans ce test de l'iléon stimulé sont les plus analgésiques, mais encore que ces rapports d'activités sont très voisins.

Ce parallélisme entre l'activité centrale des analgésiques et leur action sur la libération de l'acétylcholine au niveau des fibres nerveuses autonomes de l'iléon isolé de cobaye pourtant en apparence sans aucun lien pourrait peut être faire de l'iléon stimulé coaxiallement un test d'activité pour les analgésiques narcotiques.

En effet, récemment BELESLIN, POLAK (1965) et SHARKAWI (1969) ont découvert que la morphine inhibe la libération d'acétylcholine au niveau du cerveau de chat, alors que le russe BULAEV (1970) a montré que la morphine et le fentanyl agissent surtout en interrompant la transmission synaptique au niveau des neurones intercalaires des cornes postérieures de la moelle lombaire.

Dans le cas des neuroleptiques, l'addition d'une dose active d'acétylcholine après stimulation ne produit plus aucun effet. Aussi peut-on estimer que l'alimémazine et le déhydrobenzpéridol n'agissent pas de la même façon que les analgésiques. Ils se comportent comme des antagonistes de l'acétylcholine au niveau de ses récepteurs spécifiques (voir Figure 22).

3.1.3.6. CONCLUSIONS.

Les quatre analgésiques étudiés inhibent les contractions obtenues par stimulation électrique coaxiale de l'iléon isolé de cobaye.

Cette inhibition en rapport avec leurs concentrations est la conséquence d'une diminution de la libération d'acétylcholine au niveau des terminaisons postganglionnaires.

D'autre part, leur pouvoir inhibiteur sur les terminaisons nerveuses, étant en rapport étroit avec leur puissance analgésique (fentanyl > phénopéridine > dextromoramide > morphine), cela nous entraîne à comparer les

effets obtenus sur les plexus nerveux de l'iléon avec ceux obtenus sur le système nerveux central, ceci en accord avec PATON qui déclare que "le réseau entérique autonome peut fournir un paradygme simple et valable du réseau plus complexe du cerveau lui-même".

Les deux neuroleptiques étudiés, comme les analgésiques diminuent les contractions de l'iléon stimulé électriquement, mais à des concentrations beaucoup plus importantes et par un mécanisme bien différent. On ne retrouve par ce test que leurs propriétés parasympatholytiques . L'alimémazine s'est révélée être la plus active.

---°---

3.2. ACTION DES ANALGESIQUES ET NEUROLEPTIQUES SUR LES RECEPTEURS CHOLINERGIQUES de la FIBRE MUSCULAIRE STRIEE

3.2.1. INTRODUCTION.

Les analgésiques et neuroleptiques étudiés présentant in vitro une action anti-acétylcholine marquée au niveau de la musculature lisse intestinale, il nous a semblé intéressant de reprendre l'étude de ces médicaments au niveau des récepteurs cholinergiques des muscles striés. Nous les avons testés sur 2 préparations classiques de muscles squelettiques isolés provenant d'espèces animales différentes :

- Le Rectus abdominis de grenouille,
- l'Hémidiaphragme de rat.

3.2.2. ESSAI SUR LE RECTUS ABDOMINIS DE GRENOUILLE.

3.2.2.1. PRINCIPE ET METHODE.

Histologiquement, on considère que le rectus abdominis de grenouille est formé de fibres musculaires à réponse lente (BRECHT et EPPLE, 1952) dont le système contractile est organisé sur place, autour de multiples petites

jonctions nerveuses distribuées sur toute la surface de la fibre musculaire (KUFFLER, WILLIAMS, 1953).

L'application d'une concentration appropriée d'acétylcholine (ou autre substance dépolarisante) se traduit par une contraction lente plus ou moins importante semblable à celle qu'on obtiendrait si on stimulait le nerf alimentant de tels muscles (FLEISHER et coll. 1960).

Technique : Nous avons opéré selon la technique de GARCIA de JALON (1947).Un muscle droit de l'abdomen de grenouille est isolé, puis monté dans une éprouvette de 10 ml remplie de solution de Ringer traversée par un courant continu de carbogène à 5 pour 100 de CO_2 . La préparation est maintenue à température ambiante. Les contractions obtenues son enregistrées sur un cylindre enfumé.

Toutes les quatre minutes, une dose d'acétylcholine est ajoutée dans l'éprouvette, laissée 90 secondes, puis l'éprouvette est lavée 2 fois. Quand les réponses à l'acétylcholine sont régulières, on ajoute la substance dont on veut déterminer l'activité, 1 minute avant l'acétylcholine.

En opérant de la sorte, nous avons essayé de déterminer pour chacune des substances analgésiques et neuroleptiques étudiées les valeurs de leur pA_2 vis-à-vis de l'action contracturante de l'acétylcholine.

3.2.2.2. RESULTATS.

3.2.2.2.1. Résultats obtenus avec les analgésiques.

a) Morphine :

Alors que AGARWAL et BHARGAVA (1969) étudiant la morphine sur cette préparation ont montré qu'à la concentration de 200 µg par ml, cette substance inhibait nettement (30 pour 100) les effets contracturants de l'acétylcholine, il nous a été impossible de retrouver cette action. Nous avons au contraire pour des concentrations en morphine de 50 à 200 µg/ml, obtenu une potentialisation de la réponse à l'acétylcholine du même type que celle observée généralement avec des substances anticholinestérasiques comme le montre la Figure 23.

Parfois même des doses supérieurs contractent directement le muscle.

b) Dextromoramide :

Il s'est révélé le plus antiacétylcholine de toutes les substances étudiées sur cette préparation. En présence de 1,5 µ g/ml de dextromoramide, la réponse du muscle à la dose d'acétylcholine initiale correspond à celle que provoque la moitié de cette dose. La valeur de la pA_2 du dextromoramide déterminée par le calcul est de 5,41.

c) Phénopéridine :

Moins active que le dextromoramide, la phénopéridine s'oppose à l'action contracturante de l'acétylcholine à partir de concentrations supérieures à 5 µg/ml. La concentration permettant de calculer sa pA_2 est de 20 µg/ml, nous avons trouvé comme valeur 4,3.

d) Fentanyl :

Plus actif que la phénopéridine, la dose de 11 µg/ml nous a permis de déterminer à 4,5 la valeur de la pA_2 vis-à-vis des effets contracturants de l'acétylcholine. (Figure 22).

3.2.2.2.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques.

a) Alimémazine :

Elle s'est montrée beaucoup plus active que le déhydrobenzpéridol. La valeur de la pA_2 , déterminée par le calcul, est de l'ordre de 4,86. L'alimémazine semble se fixer intensément sur les tissus, l'acétylcholine ne retrouve pratiquement plus son activité contracturante initiale, même après de multiples lavages.

b) Déhydrobenzpéridol :

Sur cette préparation il s'est révélé le moins actif de toutes les substances étudiées. La valeur de la pA_2 est de 3,57.

Comme l'alimémazine, le déhydrobenzpéridol manifeste très longtemps son action inhibitrice vis-à-vis de l'acétylcholine ; on ne retrouve pratiquement plus les réponses initiales même après de nombreux lavages.

3.2.2.3. CONCLUSIONS.

A l'exception de la morphine dont l'action peut être rattachée à son activité anticholinestérasique toutes les substances analgésiques et neuroleptiques étudiées s'opposent à l'action contracturante de l'acétylcholine au niveau de la fibre musculaire striée en agissant :

- soit au niveau des fibres nerveuses, en diminuant la libération d'acétylcholine consécutive à la stimulation de ces structures par l'acétylcholine exogène (FLEISHER et coll. 1960).
- soit au niveau "des jonctions neuromusculaires" réparties tout le long du muscle.

Le classement de ces substances d'après leur pA_2 par ordre d'activité antiacétylcholine décroissante est le suivant :

Dextromoramide > alimémazine > fentanyl > phénopéridine > déhydrobenzpéridol.

Dans tous les cas, alors que l'action inhibitrice par les analgésiques disparaissait après 3 ou 4 lavages de la préparation, celle des neuroleptiques s'est montrée pratiquement irréversible.

3.2.3. ESSAIS SUR L'HEMIDIAPHRAGME DE RAT.

3.2.3.1. INTRODUCTION.

Les résultats obtenus avec la préparation précédente, histologiquement différente des structures de mammifères, car ne mettant en jeu que des fibres nerveuses de petit diamètre (KUFFLER, 1949) et des plaques motrices moins différenciées montrent que les analgésiques et neuroleptiques étudiés diminuent plus ou moins la contracture du

muscle provoquée par l'acétylcholine. Elles se conduiraient donc comme certaines substances curarisantes : les acétylcholinocompétitifs. Aussi, nous a-t-il semblé intéressant d'étudier les effets de ces substances sur la préparation Nerf Phrénique - Diaphragme isolés de rat ; cela d'autant plus que cet essai pourra nous permettre d'explorer plus à fond leur activité vis-à-vis des récepteurs cholinergiques des muscles squelettiques ou des mécanismes de contraction du muscle.

3.2.3.2. MATERIEL ET METHODE.

Nous avons opéré selon la technique classique de BULBRING (1946) améliorée par CHOU (1947) et GARCIA de JALON (1947).

Sur un rat de 200 à 250 grammes, sacrifié par décapitation pour éviter toute hémorragie thoracique, on prélève avec précaution (en évitant toute dessication et tout tiraillement) un segment triangulaire de diaphragme dont la base est constituée par une portion costale, et la pointe par une portion tendineuse. L'innervation phrénique a été respectée, et le nerf a été isolé sur quelques centimètres. Le bord costal est fixé à la partie inférieure d'un bain de 100 ml de tyrode maintenu à température ambiante, enrichi en glucose (1,5 g. par litre au lieu de 1 g.) et oxygéné par du carbogène à 5 pour 100 de CO_2 .

La partie tendineuse est reliée à un inscripteur. Le nerf phrénique est introduit à travers une fine membrane de caoutchouc dans un tube à électrode liquide contenant la cathode. L'anode est placée dans le bain lui-même.

La préparation est stimulée par des courants rectangulaires dont le seul paramètre fixe est la largeur : 0,1 ms. Le voltage a varié entre 0,5 et 2 volts.

Pour chaque essai, nous inspirant des travaux de CHEYMOL, BOURILLET et KOBAYASHI (1957, 1960, 1961, 1966) nous avons réalisé les opérations les plus significatives qui permettent d'étudier le mécanisme d'action de substances actives sur la jonction neuromusculaire :

a) Augmentation de la fréquence de stimulation. Nous avons adopté les paramètres préconisés par BLACKMANN (1963). Chaque minute, la préparation est soumise à 3 fréquences de stimulation différentes, pendant des temps variables :

30 secondes à la fréquence de 0,1 CS
15 secondes à la fréquence de 0,5 CS
15 secondes à la fréquence de 2 CS.

Ce test permet de situer approximativement l'étage où agit la substance paralysante. Si celle-ci agit avant la jonction neuromusculaire; en diminuant la quantité d'acétylcholine libérée aux terminaisons du nerf moteur, la paralysie sera beaucoup plus marquée à fréquence élevée.

b) Stimulation du nerf toutes les 5 minutes à une fréquence tétanisante de 50 cycles/secondes pendant 15 secondes.

c) Stimulation directe du muscle avant et après addition de la substance à étudier.

d) Action d'un antagoniste classique des curarisants acétylcholinocompétitifs : la Néostigmine.

3.2.3.3. RESULTATS.

3.2.3.3.1. Résultats obtenus avec les analgésiques.

a) Morphine :

a) A la fréquence la plus élevée, le chlorydrate de morphine à la concentration de 8×10^{-4} g/ml paralyse presque entièrement cette préparation en moins de 10minutes, alors qu'à la fréquence de 0,1 CS l'amplitude des contractions du diaphragme est seulement diminuée de 30 pour 100.

Cette accentuation de la paralysie par augmentation de la fréquence de stimulation se retrouve dans tous les cas, comme le montre le tableau ci-après, la morphine étant utilisée à des concentrations plus faibles : 4×10^{-4} et 6×10^{-4} g/ml.

Concentration en Morphine (g/ml)	Fréquence \ Temps de contact	+ 3mn	+ 6mn	+ 10 mn	+ 20mn
4×10^{-4}	0,1 CS	↗ 10%	↗ 8%	0	0
	0,5 CS	0	0	↙ 12%	↙ 20%
	2 CS	↙ 8%	↙ 17%	↙ 30%	↙ 50%
6×10^{-4}	0,1 CS	↗ 13%	↗ 8,5%	↙ 5%	↙ 10%
	0,5 CS	↗ 4%	0	↙ 18%	↙ 30%
	2 CS	↙ 10%	↙ 28%	↙ 51%	↙ 75%

Tableau XXV - Modification de l'amplitude des contractions de l'hémidiaphragme par action de la morphine.

↗ = augmentation de l'amplitude des contractions,

↙ = Diminution de l'amplitude des contractions.

La lecture de ce tableau montre l'existence de deux phénomènes (figure 24).

- Augmentation discrète de l'amplitude des contractions à basse fréquence pendant un temps assez court.

- Augmentation très nette de la paralysie lors de l'accroissement de la fréquence de stimulation. Elle dépend du temps de contact et des concentrations de départ.

b) La stimulation du nerf à la fréquence de 50 CS pendant 15 secondes entraîne l'apparition d'un tétanos plus ou moins bien soutenu.

c) Le muscle en général répond normalement à la stimulation directe ; parfois on observe une petite diminution de la réponse.

d) La néostigmine ne modifie presque pas la paralysie entraînée par la morphine. Quand elle manifeste une action, c'est dans le sens d'une accentuation.

e) Il est bon de noter que :

- la reversibilité de l'action est assez difficile à obtenir et dépend de l'importance de la paralysie.
- après récupération complète ou partielle (80 pour 100) une deuxième administration de substance agit plus rapidement et se montre légèrement plus active que la première.

b) Dextromoramide :

a) Le dextromoramide ne manifeste rapidement une action paralysante que si la préparation a déjà été mise en contact avec une première dose de même substance ou d'autre analgésique morphinique. En effet, une première administration de dextromoramide entraîne une augmentation importante de l'amplitude des contractions du diaphragme se manifestant à toutes les fréquences de stimulation. Cependant, après 10 minutes de contact, les contractions obtenues à 2 CS diminuent d'amplitude alors qu'elles restent identiques aux autres fréquences,(voir figure 25 et tableau) regroupant les résultats obtenus avec le dextromoramide à la concentration de 4×10^{-5} g/ml.

Temps de contact / *Fréquence*	*+ 5mn*	*+ 10 mn*	*+ 15 mn*	*+ 20 mn*	*+ 25 mn*	*+ 30 mn*
0,1 CS	↗ 20%	↗ 37,5%	↗ 37,5%	↗ 37,5%	↗ 37,5%	↗ 37,5%
0,5 CS	↗ 23%	↗ 42 %	↗ 42 %	↗ 42 %	↗ 42 %	↗ 42 %
2. CS	↗ 39%	↗ 53 %	↗ 50 %	↗ 34 %	↗ 20 %	↗ 14 %

Tableau XXVI - Modifications de l'amplitude des contractions de l'hémidiaphragme de rat par action de 4×10^{-5} g/ml d'une première dose de Dextromoramide.

Après lavage et récupération des contractions de départ, une deuxième administration de dextromoramide à la même concentration entraîne une paralysie rapide et presque complète en moins de 15 minutes à la fréquence maximum alors qu'on observe pratiquement aucune diminution de l'amplitude des contractions à la fréquence de 0,1 CS. L'importance de la paralysie dépend du temps de contact et de l'importance de la concentration en analgésique (voir tableau XXVII et Figure 25).

ncentration en tromoramide (g/ml)	*Temps de contact* / *Fré-quences*	*Pourcentage d'inhibition des contractions*			
		+ 5 mn	*+ 10 mn*	*+ 15 mn*	*1 mn après néostigmine 1×10^{-6} g/ml*
$\times 10^{-5}$	0,1 CS	0	0	0	↙ 21
	0,5 CS	0	↙ 5	↙ 8	↙ 48
	2 CS	↙ 15	↙28	↙50	↙ 90
$\times 10^{-5}$	0,1 CS	0	0	0	↙ 27
	0,5 CS	0	↙23	↙32,6	↙ 82
	2 CS	↙ 63	↙90	↙96	↙ 100

bleau XXVII - pourcentage d'inhibition de l'amplitude des contractions du diaphragme par action d'une deuxième dose de Dextromoramide.

b) Le tétanos au cours du blocage est assez bien soutenu.

c) Le muscle répond normalement à la stimulation directe.

d) La néostigmine ajoutée à la concentration de 1×10^{-6} g/ml en cours de blocage augmente la paralysie de la préparation dans des proportions considérables. La paralysie se manifeste à toutes les fréquences de stimulation.

e) Lors de l'expérimentation, nous avons remarqué que :

- le dextromoramide provoquait une paralysie plus ou moins réversible selon son importance.
- le dextromoramide agit plus rapidement après un premier contact, et se fixe très fortement sur les tissus, la deuxième administration étant toujours beaucoup plus active que la première.

c) Phénopéridine :

a) Comme précédemment, la réponse du diaphragme à la première administration de produit se traduit généralement par une augmentation de l'amplitude des contractions. Cette augmentation était de l'ordre de 25 pour 100 aux trois fréquences de stimulation pour une concentration de 2×10^{-5} g/ml de phénopéridine.

Après lavage et récupération des contractions initiales, l'addition de la même quantité d'analgésique se traduit par l'apparition d'une paralysie d'autant plus importante que la fréquence de stimulation est élevée ; ce phénomène étant cependant moins prononcé que dans les cas précédents (voir tableau et Figure 26).

Temps de contact / *Fréquence*	*5 mn*	*10 mn*	*15 mn*	*20 mn*
0,1 CS	↙13 %	↙ 25	↙35	↙ 40
0,5 CS	↙15	↙ 32	↙40	↙ 42
2 CS	↙20	↙ 45	↙55	↙ 75

Tableau XXVIII - Pourcentage d'inhibition de l'amplitude des contractions du diaphragme par action d'une deuxième dose de phénopéridine à la concentration 2×10^{-5} g/ml

- L'activité paralysante de la phénopéridine augmente dans le temps et varie dans le même sens que la concentration en analgésique utilisée.

b) Le tétanos en cours de blocage est assez bien soutenu, son amplitude étant sensiblement proportionnelle à celle de la contraction simple.

c) Le muscle n'est pas paralysé et répond normalement à la stimulation directe.

d) La néostigmine ajoutée au cours du blocage à la concentration de 1×10^{-6} g/ml ne lève pas la paralysie mais au contraire tend à l'accentuer.

e) La phénopéridine possède en outre, les caractères suivants :

- la paralysie qu'elle entraîne est plus ou moins réversible selon son importance;
- elle agit rapidement quand une première mise en contact a déjà été réalisée. Et surtout, elle se fixe fortement sur les tissus, la deuxième administration étant toujours beaucoup plus active que la première.

d) Fentanyl :

a) Le soluté utilisé ne contenant que 500 µg de principe actif pour 10 ml de solvant, nous avons comparé en opérant dans les mêmes conditions, les activités respectives du soluté et du solvant seul sur cette préparation.

Le fentanyl à la concentration de 4×10^{-6}g/ml entraîne dès la première administration une diminution de l'amplitude des contractions sans augmentation préalable alors que le solvant seul se montre sans action. Cette inhibition des contractions par le fentanyl après 15 minutes de contact est légèrement plus accentuée à fréquence rapide qu'à fréquence lente (28 % contre 20 %, voir Figure 22).

b) Le tétanos est assez bien soutenu.

c) Le muscle répond à la stimulation directe.

d) La néostigmine ajoutée à la concentration de 1×10^{-6}g/ml dans le bac au cours du blocage ne lève pas la paralysie.

e) Le fentanyl manifeste son action assez rapidement (2 ou 3 minutes), la paralysie est facilement réversible à la concentration utilisée.

3.2.3.3.2. Résultats obtenus avec les neuroleptiques.

a) Alimémazine :

a) Utilisée à des concentrations de l'ordre de 4×10^{-5} g/ml, l'alimémazine paralyse entièrement cette préparation en moins de 10 minutes.

Pour des concentrations variant entre 8×10^{-6}g/ml et 1×10^{-5}g/ml on obtient au bout de 20 mn une inhibition voisine de 50 pour 100 de l'amplitude des contractions de départ, cette inhibition étant la même, quelle que soit la fréquence de stimulation considérée.

b) La stimulation du nerf au cours d'une paralysie par l'alimémazine à une fréquence tétanisante de 50 cycles/seconde pendant 15 secondes entraîne un tétanos très bien soutenu, dont l'amplitude est proportionnelle à celle de la contraction simple. On observe généralement une potentialisation post-tétanique.

c) Le muscle est légèrement paralysé, car il devient moins sensible à la stimulation directe.

d) La néostigmine ajoutée en cours de blocage n'a pratiquement aucune action.

e) L'alimémazine agit après un certain temps de latence, environ 5 minutes à faible concentration. Elle provoque une paralysie dont la réversibilité est fonction des concentrations. Elle se fixe peu sur les tissus, une deuxième administration n'étant pas plus active que la première.

b) Déhydrobenzpéridol :

a) Le déhydrobenzpéridol à la concentration de 2×10^{-5} g/ml entraîne une paralysie complète de la préparation en moins de 5 minutes.

A la concentration de 6×10^{-6} g/ml il est responsable après 20 minutes de contact d'une diminution de 40 pour 100 de l'amplitude des contractions de départ, diminution identique aux 3 fréquences de stimulation choisies.

b) Le tétanos en cours de blocage est très bien soutenu (Figure 27).

c) Le muscle répond normalement à la stimulation directe.

d) La néostigmine est sans effet sur la paralysie.

e) La paralysie provoquée par le déhydrobenzpéridol est plus ou moins réversible suivant les doses. Il agit rapidement (3 à 5 minutes) et se fixe peu au niveau des tissus, une deuxième administration ayant sensiblement la même activité que la première.

3.2.3.4. DISCUSSION DES RESULTATS.

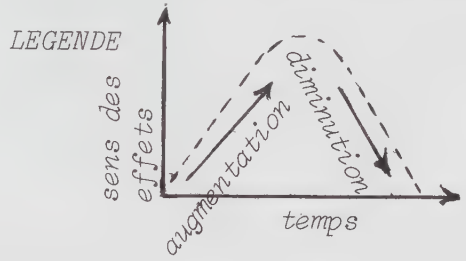
Nous avons résumé sous forme de tableau les résultats obtenus sur l'hémidiaphragme avec les analgésiques et neuroleptiques étudiés, nous y avons inclus les résultats trouvés sur le rectus abdominis de grenouille.

SUBSTANCES concentration en g/ml	*Hémidiaphragme de rat*										*Rectus abdominis de grenouille*
	Effet de la stimulation à 3 fréquences différentes sur l'amplitude des contractions						*Tétanos*	*Stimulation directe*	*Action de la Néostigmine*	*Fixation sur Tissus*	pA_2 *rectus*
	1° Administr.			*2° Administr.*							
	0,1 CS	*0,5CS*	*2 CS*	*0,1CS*	*0,5*	*2*					
MORPHINE 4×10^{-4}							± soutenu	normale parfois ↙ légère	0 action parfois ↗ paralysie	+	↗ effets Ach. contracte directement parfois
DEXTROMORAMIDE 4×10^{-5}	↗	↗	↗	=	↘	↓	± soutenu	normale	↗↗ paralysie	+++	+++ 5,4
PHENOPERIDINE 2×10^{-5}	↗	↗	↗	↘	↓	↓	+	normale	↗ paralysie	+++	+ + 4,3

FENTANYL 4 x 10^{-6}	↙	↙	↙	↙	↙	↙	++	normale	0 effet	+	+ + 4,5
ALIMEMAZINE 8 x 10^{-6}	↙	↙	↙	↙	↙	↙	+++	↙ légère	0 effet	±	+ + 4,86
DEHYDROBENZPERIDOL 8 x 10^{-6}	↙	↙	↙	↙	↙	↙	+++	normale	0 effet	±	+ 3,57
TOXINE BOTULINIQUE (*)	↙	↙	↙	↙	↙	↙	++	normale	0 effet	+++	

(*) *D'après CHEYMOL, BOURILLET, CGURA (1962)*

TAbleau XXIX - *Résumé des actions des analgésiques et neuroleptiques sur l'hémidiaphragme de rat et le rectus abdominis de grenouille.*



modification de l'amplitude des contractions de l'hémidiaphragme de rat en fonction du temps.

Ces quelques données nous permettent de déterminer approximativement le niveau d'action de ces substances sur la transmission neuromusculaires.

3.2.3.4.1. Cas des Analgésiques.

Dans le cas des analgésiques, la paralysie survient lentement, progressivement, et la stimulation à fréquence élevée accélère son apparition. Ces phénomènes s'observent dans le cas de bloc préjonctionnel (SCHMITT, 1970) ; toute substance diminuant la quantité d'acétylcholine libérée au niveau des terminaisons nerveuses augmente la vitesse d'installation de la paralysie par stimulation plus fréquente, les besoins en acétylcholine étant accrus.

Il semble donc probable que la morphine, le dextromoramide, la phénopéridine et le fentanyl agissent en interférant avec la biosynthèse ou la libération de l'acétylcholine au niveau des terminaisons nerveuses motrices comme par exemple la procaïne ou la toxine botulinique, (CHEYMOL et coll. 1962). Certains caractères de cette dernière sont d'ailleurs comparables à ceux des analgésiques (tableau XXIX). Cette propriété de diminuer la quantité d'acétylcholine libérée par des fibres nerveuses est d'ailleurs mise en évidence par HARRY (1963) au niveau de la musculature lisse de l'iléon de cobaye dans les cas de la procaïne, de la toxine botulinique et de la morphine.

Il apparaît cependant que sur l'hémidiaphragme de rat, le bloc préjonctionnel produit par les analgésiques n'est obtenu en général qu'au cours de la 2ème administration ; la première administration (cas du dextromoramide et phénopéridine) entraînant plutôt une augmentation de l'amplitude des contractions de la préparation.

On peut penser qu'il faut un temps de latence marqué avant que ces substances n'agissent au niveau des terminaisons nerveuses, et que seule se manifeste principalement lors du premier contact leur activité anticholinestérasique mise en évidence dans un chapitre précédent. Ces substances se fixant intensément sur les tissus, malgré les lavages, une nouvelle administration va entraîner une paralysie, la fibre nerveuse étant devenue plus sensible.

Ce phénomène est très accusé avec la phénopéridine et surtout le dextromoramide beaucoup plus anticholinestérasique ; ces 2 analgésiques agissant lentement et se fixant par ailleurs très fortement sur les tissus, alors qu'il est fugace avec la morphine pourtant très anticholinestérasique mais se fixant peu sur les tissus et agissant avec une latence relativement réduite. On n'observe d'ailleurs aucune augmentation dans le cas du fentanyl qui s'est révélé très peu anticholinestérasique.

Il est curieux de noter l'existence d'une sorte de sensibilisation de groupe en faveur d'un lieu commun d'action de ces analgésiques ; en effet, après un premier contact avec un des analgésiques, l'administration d'un analgésique morphinomimétique différent va rapidement entraîner une paralysie de la préparation, sans augmentation préalable de l'amplitude des contractions.

3.2.3.4.2. Cas des neuroleptiques .

Les caractères de la paralysie obtenue par actions de l'alimémazine et du déhydrobenzpéridol sont identiques ; cependant il est très difficile de déterminer les mécanismes responsables d'une telle action. Il semblerait d'après des études déjà effectuées avec d'autres neuroleptiques que ces mécanismes sont multiples et mal différenciés.

SU et LEE (1960) étudiant l'action paralysante in vitro de la chlorpromazine et de la prométhazine obtiennent les mêmes résultats que nous, tant sur l'hémidiaphragme de rat que sur le rectus de grenouille. Ils en concluent que le lieu d'action de ces substances est la plaque motrice. Les travaux de WISLICKI (1958) in vivo suggéraient déjà ce lieu d'action.

Aussi, comme ces auteurs, nous concluerons que le blocage neuromusculaire entraîné par ces neuroleptiques ressemble par certains points à celui de la d tubocurarine. Cependant, à cette action type curarimimétique s'ajoute une action paralysante directe sur le muscle dans le cas de l'alimémazine (KOPERA-ARMITAGE 1954, BURN 1954). Il ne serait par ailleurs pas impossible que ces substances agissent aussi en diminuant la quantité d'acétylcholine libérée par stimulation (RYALL 1956 et OTUBO 1959).

3.2.3.5. CONCLUSIONS :

Les analgésiques sembleraient manifester leur action principalement avant la plaque motrice en interrompant le processus de la transmission neuromusculaire au niveau du nerf moteur soit en empêchant la synthèse de l'acétylcholine, soit en diminuant sa libération ; alors que les neuroleptiques agiraient plutôt au niveau de la plaque motrice en même temps que sur la fibre musculaire dans le cas de l'alimémazine.

---°---

QUATRIEME PARTIE

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

4.1. DISCUSSION DE L'ENSEMBLE DES RESULTATS

L'étude expérimentale de l'action sur le "système cholinergique" de diverses substances utilisées en neuroleptanalgésie nous a conduit à un certain nombre de résultats parmi lesquels il est possible de retenir les faits suivants :

Le dextromoramide, la phénopéridine et le fentanyl présentent au niveau de ce système un ensemble de propriétés communes tant stimulantes qu'inhibitrices.

In vivo, ce sont les effets résultant d'une stimulation qui prédominent.

En effet, après injection intraveineuse, ces analgésiques provoquent :

- sur le système cardiovasculaire une hypotension durable accompagnée de bradycardie.

- au niveau de la fibre musculaire lisse une stimulation intense de la motricité intestinale.

La section des deux pneumogastriques supprime aussitôt la totalité des effets cardiovasculaires, alors que l'apparition de l'hypermotricité intestinale est seulement retardée dans le temps; l'augmentation brutale de tonus apparaissant dans les secondes suivant l'injection est seule supprimée.

L'injection préalable d'atropine à la dose de 1 mg/kg empêche en grande partie l'apparition de ces phénomènes.

Il semble donc qu'un mécanisme central lié à la stimulation directe ou indirecte du centre vagal, renforcé par une action périphérique soit responsable de l'activité de ces analgésiques sur ces deux appareils.

Parmi les mécanismes susceptibles d'intervenir à la périphérie, il est logique de penser à une activité inhibitrice vis-à-vis des cholinestérases, décrite par de nombreux auteurs dans le cas de la morphine, ce mécanisme est susceptible de renforcer les effets de l'acétylcholine.

Les cholinestérases étant abondantes au niveau de l'intestin, leur inhibition pourrait expliquer l'hypermotricité intestinale observée malgré la bivagotomie. Ces effets ne pourront être bloqués que par l'atropine agissant à la périphérie.

L'étude de l'activité anticholinestérasique des analgésiques effectuée par deux méthodes différentes a montré que la morphine est la plus anticholinestérasique des analgésiques étudiés, nous avons ensuite trouvé par ordre d'activité décroissante :

dextromoramide > phénopéridine > fentanyl.

Les effets cholinergiques dont ils sont responsables varient dans le même sens (monographies des analgésiques d'après VIARS : fig. 1, 2, 3, 4).

Ces deux dernières substances relativement peu actives sur les cholinestérases exercent cependant sur la motricité intestinale une action comparable aux deux autres. L'activité parasympathomimétique indirecte ne peut donc suffire à elle seule à expliquer les effets stimulants observés sur l'intestin après section des vagues. Aussi, il semble nécessaire d'envisager d'autres mécanismes, par exemple :

- une action centrale avec une composante viscérale efférente par l'intermédiaire d'une voie autre que le pneumogastrique (PATON 1957) ; cette voie pourrait être celle représentée par le parasympathique spinal.

- une action directe sur la musculature lisse, mais cette hypothèse peut difficilement être retenue car ils n'ont aucune action directe sur l'intestin isolé.

- une activité au niveau des mécanismes réglant la biosynthèse, le stockage, la libération ou le catabolisme de l'acétylcholine.

- des mécanismes indirects locaux: histamino-libération (FELDBERG, PATON 1951, TANAKA, LIN, 1969) ou libération de sérotonine (BURKS et LONG 1967); nous avons même montré dans le cas du dextromoramide que les effets de cet analgésique sont supprimés par administration de bradykinine d'où l'éventualité d'une action "antibradykinine".

L'étude sur organes isolés de ces mêmes substances montre qu'elles se conduisent alors de façon totalement différente au niveau de la fibre musculaire lisse : ce sont les effets résultant d'une inhibition du système cholinergique qui prédominent. Nous avons essayé d'étudier sur diverses préparations musculaires leur action sur la transmission de l'influx nerveux. Les résultats obtenus avec ces analgésiques ont été les suivants :

- au niveau de la fibre musculaire lisse, ils agissent principalement en diminuant la quantité d'acétylcholine libérée au niveau des terminaisons nerveuses, ils n'ont apparemment pas d'action atropinique sur les fibres musculaires lisses, bien qu'ils diminuent l'action de l'acétylcholine (LEWIS, 1960).

Cette activité principale a été mise en évidence

- sur l'iléon de cobaye contracté simultanément par la nicotine et l'acétylcholine,

- sur l'iléon de cobaye stimulé électriquement.

La première série d'expérimentations a montré que pour de faibles doses d'analgésique de l'ordre de 10^{-8} g/ml les réponses à la nicotine sont inhibées, alors que celles de l'acétylcholine sont peu ou pas modifiées.

Nous avons aussi montré dans le cas du dextromoramide utilisé à des concentrations supérieures que la diminution de la réponse à l'acétylcholine peut être expliquée par un mécanisme analogue dans la mesure où l'on admet que l'acétylcholine exogène agit en partie par l'intermédiaire de la fibre nerveuse restée en place.

La deuxième série d'expérimentations utilisant l'iléon stimulé électriquement nous a permis de confirmer l'action inhibitrice principale des analgésiques sur l'acétylcholine libérée au niveau des terminaisons nerveuses postganglionnaires et de comparer leurs activités. Par ordre d'activité inhibitrice décroissante, nous avons pu classer

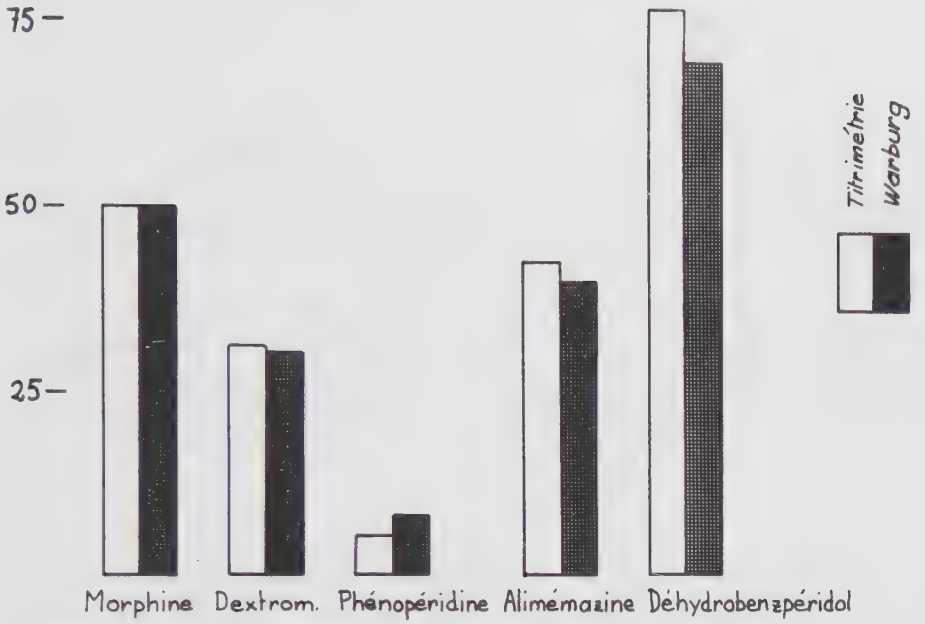
fentanyl > phénopéridine > dextromoramide > morphine.

Nous avons retrouvé comme PATON (1957) et COX et WEINSTOCK(1966) l'ont obtenu pour la morphine et d'autres morphinomimétiques l'existence d'un parallèlisme étroit entre leur action analgésique d'une part et l'inhibition qu'ils créent d'autre part à l'égard de la libération d'acétylcholine provoquée par la stimulation électrique de l'intestin.

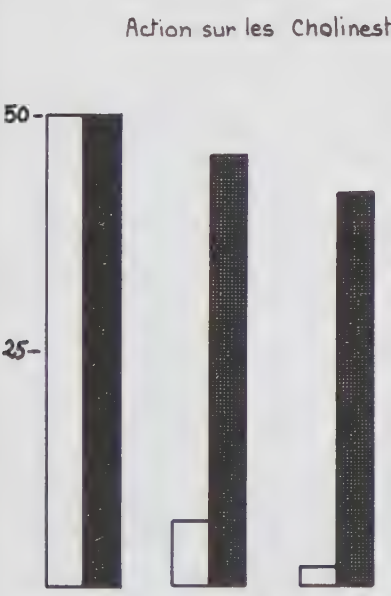
Il est a remarquer par ailleurs que activité anticholinestérasique et activité inhibitrice vis-à-vis de la libération d'acétylcholine varient en sens opposé (graphique 3) Par exemple la morphine, analgésique le plus anticholinestérasique apparaît comme la moins inhibitrice de la libération d'acétylcholine postganglionnaire, contrairement au fentanyl qui manifeste des actions inverses.

De plus, pour des doses équianalgésiques, alors que ces substances s'opposent également à la libération d'acétylcholine (graphique 2), leur activité vis-à-vis des cholinestérases est bien différente : ceux qui sont responsables d'effets cholinergiques les plus importants en clinique (morphine et dextromoramide) sont de beaucoup les plus anticholinestérasiques.

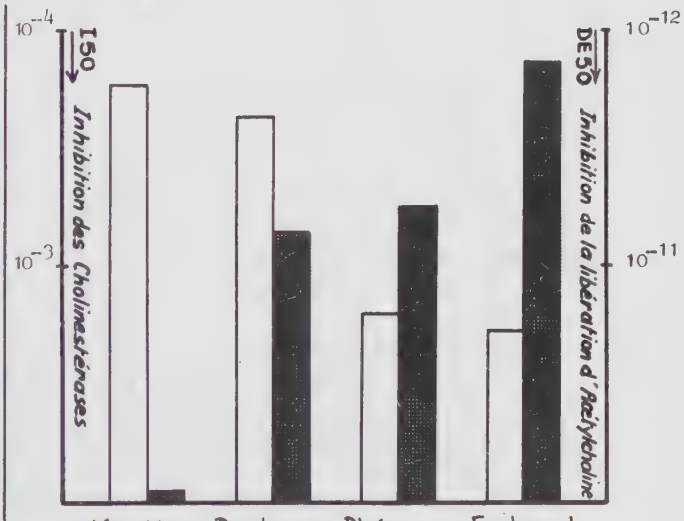
- Au niveau de la fibre musculaire striée, ils inhibent tous la contraction du rectus abdominis de grenouille provoquée par addition d'acétylcholine à l'exception de la morphine qui semble se comporter comme une substance parasympathomimétique indirecte (activité anticholinestérasique).



Graphique 1 – ACTIVITES ANTICHOLINESTERASIQUES DES ANALGESIQUES ET NEUROLEPTIQUES ETUDIES PAR RAPPORT A LA MORPHINE. COMPARAISON DES DEUX METHODES DE DOSAGE UTILISEES.



Graphique 2 – ACTION DES ANALGESIQUES UTILISES A DOSES EQUIANALGESIQUES SUR LES CHOLINESTERASES ET LA LIBERATION D'ACETYLCHOLINE.



Graphique 3 – ANALGESIQUES: COMPARAISONS DE LEURS ACTIVITES ANTICHOLINESTERASIQUES ET INHIBITRICE DE LA LIBERATION D'ACETYLCHOLINE EN FONCTION DE LEURS CONCENTRATIONS INHIBITRICES 50.

Une exploration plus poussée des effets de ces substances au niveau de la fibre musculaire striée a été réalisée avec la préparation nerf phrénique - hémidiaphragme de rat.

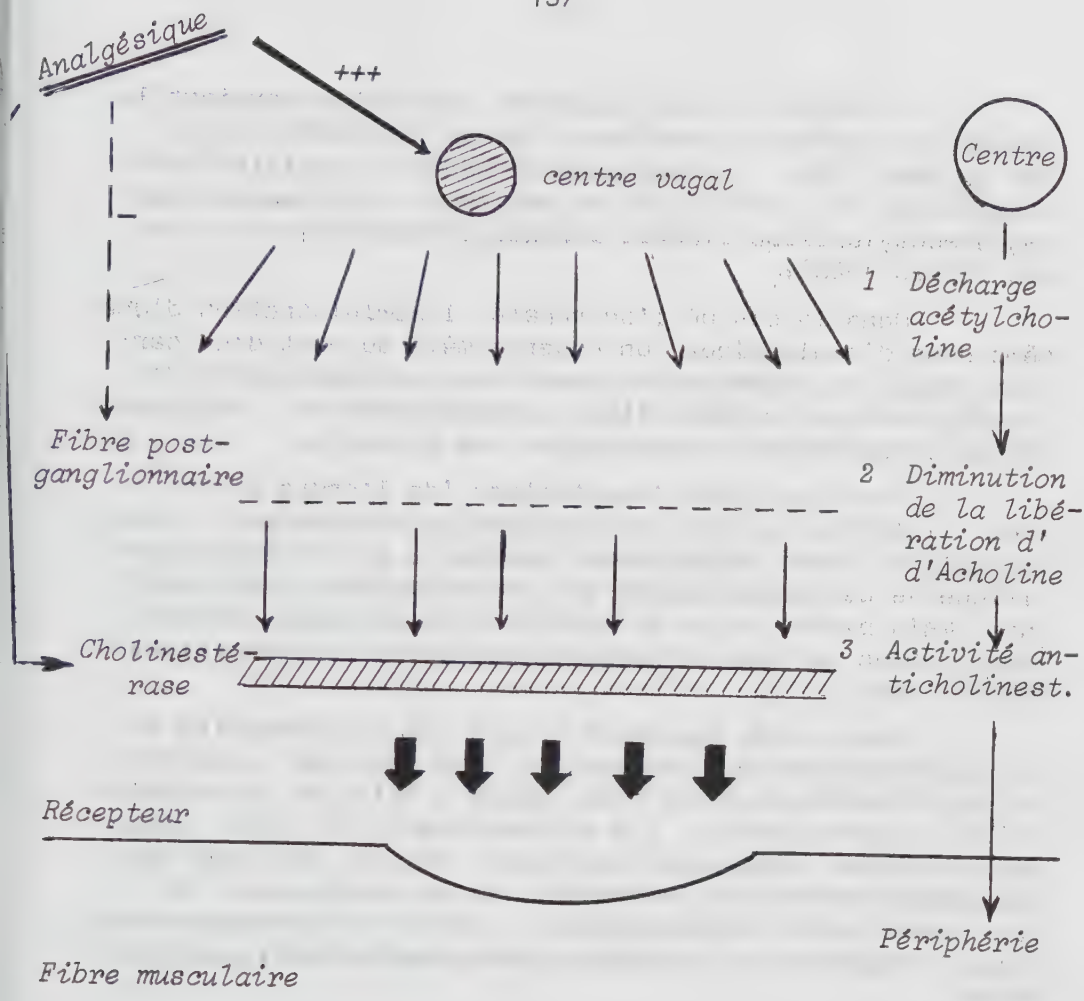
L'essai de ces substances sur l'hémidiaphragme a montré qu'elles bloquaient le processus de la transmission neuro-musculaire. Elles agiraient avant la jonction neuromusculaire en modifiant dans le sens d'une diminution soit la synthèse, soit la libération de l'acétylcholine stockée au niveau de la fibre nerveuse motrice.

A côté de cette action retrouvée pour tous les analgésiques, la morphine, la phénopéridine et surtout le dextromoramide manifestent une activité complémentaire. Au cours des premières minutes qui suivent l'addition du produit on observe une facilitation de la contraction qu'il semble possible d'attribuer à leurs propriétés anticholinestérasiques.

La connaissance de ces actions au niveau du système cholinergique peut permettre de schématiser et d'analyser plus aisément les phénomènes contradictoires observés in vivo et in vitro sur la motricité intestinale.

In vivo, dès leur administration, ces analgésiques stimuleraient le centre vagal ce qui entraînerait une décharge d'acétylcholine.

Bien qu'une partie de cette acétylcholine ne soit pas libérée au niveau des terminaisons nerveuses, il semblerait que l'action centrale de ces analgésiques soit prépondérante. Ainsi une quantité importante d'acétylcholine serait libérée au niveau de la fibre présynaptique. Protégée de l'action hydrolysante des cholinestérases, l'acétylcholine stimulerait les récepteurs cholinergiques situés au niveau de la fibre musculaire lisse. L'effet anticholinestérasique prolongeant l'action de l'acétylcholine libérée, on observe une augmentation durable de la motricité intestinale.



In vitro, l'organe isolé, n'étant plus en relation avec les centres, seule l'action inhibitrice de la libération d'acétylcholine au niveau de la fibre nerveuse postganglionnaire et l'activité anticholinestérasique persistent.

Lorsque les analgésiques sont utilisés à des concentrations qui correspondent sensiblement aux concentrations atteintes chez l'animal entier, l'action inhibitrice sur la libération d'acétylcholine expliquerait la légère diminution des effets contracturants de l'acétylcholine exogène.

En effet, on peut supposer qu'ils bloqueraient la composante nerveuse permettant d'après FELDBERG (1951) DAY et VANE (1963) d'expliquer en partie l'activité contracturante de l'acétylcholine exogène, ainsi que les quantas d'acétylcholine libérés lorsque l'intestin est au repos (LEWIS 1960).

Dans le cas où l'on répète l'administration d'une même dose d'analgésique, on observe même au bout d'un certain temps une augmentation des effets contracturants de l'acétylcholine qui peut être la conséquence de l'activité anticholinestérasique exercée par ces produits.

Pour des doses importantes (de l'ordre de 10^{-4} g/ml) l'inhibition des contractions provoquées par l'acétylcholine, n'est certainement pas due à une activité spécifique de ces analgésiques sur les récepteurs cholinergiques, mais plutôt à une inhibition d'un processus métabolique commun aux deux structures nerveuses et musculaires (LEWIS, 1960).

Nous avons également trouvé que l'alimémazine et le déhydrobenzpéridol possédaient une certaine activité anticholinestérasique au moins égale à celle de la morphine A côté de cette action, ils se comportent "in vitro" comme des substances parasympatholytiques. Malgré leur propriété parasympathomimétique indirecte, ils ne manifestent "in vivo" aucun effet cholinergique ; l'activité parasympatholytique l'emporte sur les effets parasympathomimétiques indirects.

---°---

4.2. CONCLUSIONS GENERALES

Les différentes méthodes expérimentales mises en oeuvre pour tenter d'expliquer l'origine des effets "cholinergiques" des analgésiques utilisés en Neuroleptanalgésie ont permis de dégager les faits suivants :

- Au niveau du système cardiovasculaire et de la motricité intestinale, ces produits provoquent des effets de type cholinergique supprimés ou atténués par section des pneumogastriques et bloqués en grande partie par l'atropine ; ce phénomène disparait également par perfusion de bradykinine.

- Ils présentent tous une activité anticholinestérasique mise en évidence par deux méthodes différentes. Par ordre d'activité décroissante, le classement est le suivant :

morphine > dextromoramide > phénopéridine > fentanyl.

- Au niveau de la musculature lisse de l'iléon de cobaye stimulé par la nicotine ou excitée électriquement, ces composés possèdent une activité anticholinergique : ils diminuent la quantité d'acétylcholine libérée au niveau de la fibre postganglionnaire.

- Au niveau de la fibre musculaire striée, ils agissent sensiblement de la même façon. Etudiés sur le rectus abdominis de grenouille et l'hémidiaphragme de rat, ils bloquent le processus de la transmission neuromusculaire en diminuant soit la synthèse, soit la libération de l'acétylcholine stockée dans la fibre nerveuse motrice.

A la suite de cette étude, une explication partielle des effets cholinergiques observés au niveau du système cardiovasculaire et de l'intestin à été envisagée :

- Appareil cardiovasculaire :

Les analgésiques agiraient par un mécanisme central lié à la stimulation directe ou indirecte du centre vagal renforcé à la périphérie par leur action anticholinestérasique.

- Intestin :

L'action au niveau de l'intestin résulterait de plusieurs activités qui s'opposent au s'ajoutent. Sur l'intestin isolé, ce sont les effets inhibiteurs qui l'emportent, alors que sur l'intestin in situ ce sont les effets excitants.

In vitro : L'activité anticholinestérasique se retrouve sur l'intestin isolé lorsque l'analgésique est indroduit à faible concentration dans le liquide physiologique, mais dans les conditions habituelles d'utilisation de cette préparation, ce sont les effets inhibiteurs qui dominent. L'activité inhibitrice retrouvée dans ces conditions n'est pas spécifique et ne peut-être assimilée à une activité parasympatholytique.

La stimulation électrique montre une diminution de la quantité d'acétylcholine libérée par les fibres cholinergiques postganglionnaires. Ce phénomène permet d'expliquer en partie l'action inhibitrice sur la contraction obtenue par addition d'acétylcholine dans la mesure où on admet que dans ces conditions, l'acétylcholine, agit aussi par l'intermédiaire des structures nerveuses restées en place.

In vivo : Les effets excitants résultent d'une action au niveau du centre du vague, responsable du déclenchement brutal de l'hypermotricité intestinale et de l'activité anticholinestérasique.

Cependant, il apparaît nécessaire d'envisager au moins un autre mécanisme car, d'une part la section des pneumogastriques ne diminue qu'en partie l'hypermotricité intestinale et d'autre part,alors que l'activité anticholinestératique du fentanyl est relativement faible,

l'hypermotricité qu'il provoque paraît aussi importante que celle qui résulte de l'administration du dextromoramide beaucoup plus anticholinestérasique.

Il apparaît peu vraisemblable d'envisager, soit une action au niveau des récepteurs cholinergiques post-ganglionnaires car l'intestin isolé ne répond pas par une contraction, soit une action directe sur la fibre lisse car les activités sur les fibres lisses des vaisseaux et sur les fibres lisses intestinales se manifestent en sens inverse.

Dans ces conditions, il apparaît possible de penser à une action au niveau de la fibre postganglionnaire portant soit sur la production de l'acétylcholine, soit sur sa libération, soit encore sur les mécanismes qui sont associés à ces phénomènes.

---°---

B I B L I O G R A P H I E

ABAZA A., GREGOIRE M. -
Presse Médicale, 1952, 60, 331.

AGARWAL S.L., BHARGAVA V. - Indian J. Physiol. Pharmacol., 1969, 13, 159.

ALLEN C.R., MURPHY C., MEEK W.J. - Anesthesiology, 1945, 6, 149.

AMMON R. - Pflügers Arch. Ges. Physiol., 1933, 233, 486.

ANTONIO A. - Brit. J. Pharmacol. Chemother., 1968, 32, 78.

ASSAF Ph. - Acta de l'institut d'anesthésiologie, 1957, 6, 185.

AUGUSTINSSON K.B. - The enzymes, 1950, 1, 443.

BELESLIN D., POLAK R.L., SPROULL D.H. - J. Physiol. Londres, 1965, 177, 420.

BERGEL F., MORISSON A.L. - Quart. Rev. Chem. Soc., 1948, 2, 349.

BERNHEIM F., BERNHEIM M.L.C. - J. Pharm. Exp. Ther., 1936, 57, 427.

BLACKMAN J.G. - Brit. J. Pharmacol., 1963, 20, 5.

BLOHM T.R., WILLMORE W.G. - Proc. Soc. Exp. Biol. et Med., 1951, 77, 718.

BULAEV V.M. - Farmacol. i. Toksikol. (S.S.S.R.), 1970, 33, 3, 275.

BULBRING E. - Brit. J. Pharmacol., 1946, 1, 38.

BURKS T.F., LONG J.P., - J. Pharmac. Exp. Ther., 1967, 156, 267.

BURN J.H. - Chemistry and Industry, 1948, 787.

BURN J.H. - Proc. Roy. Soc. Med., 1954, 47, 617.

BRECHT K., EPPLE O. - Pflüg. Arch. Ges. Physiol., 1952, 255, 315.

BRINDLEY C.O. - Fed. Proc., 1944, 3, 5.

CANELLAS J., LE BARS H., ROQUEBERT J., SABATHIE M. - Bull. Soc., Pharm., Bordeaux, 1963, 102, 105.

CANELLAS J., DUMARTIN A., ROQUEBERT J., SABATHIE M. - Thérapie, 1966, 21, 1159.

CASTRO J. (de), MUNDELEER P. - Anesth. et Analg., 1959, 16, 1022.

CHARY R., BOCQUET P., JAYOT R. - Revue de pathologie générale et de physiologie clinique, 1961, 733, 1251.

CHEYMOL J. - Thérapie, 1957, 12, 1.

CHEYMOL J., BOURILLET F. - Actualités pharmacologiques, 1960, 13, 63.

CHEYMOL J., KOBAYASHI T., BOURILLET F. - Arch. Int. Pharmacodyn., 1961, 134, 28.

CHEYMOL J. - Acta Inst. Anaesthesiol. Fr., 1962, 11, 50.

CHEYMOL J., BOURILLET F., OGURA Y. - Arch. Int. Pharmacodyn., 1962, 139, 187.

CHEYMOL J., BOURILLET F. - Actualités pharmacol., 1966, 19, 1.

CHOU T.C. - Brit. J. Pharmacol., 1947, 2, 17.

CHRISTENSEN E.M., GROSS E.G., - J.A.M.A., 1948, 137, 594.

COURTOIS J.E. - Annales de biologie clinique, 1959, 10-12, 551.

COURVOISIER S., DUCROT R., FOURNEL J., JULOU L. - Arch. Int. Pharmacodyn., 1958, 115, 90.

COX B.M., WEINSTOCK M. - Brit. J. Pharmac. Chemother., 1966, 27, 81.

DAY M., VANE J.R. - Brit. J. Pharmacol., 1963, 20, 150.

DE JONGH D.K. - Acta Physiol. Pharmacol. Neerl., 1954, 3, 164.

DELALANDE E.S., BENTLEY G.A. - Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 1955, 33, 555.

DELALANDE J.S., PORTER R.B. - Brit. J. Pharmac. Chemother., 1967, 29, 158.

DELAUNOIS A.L., CASIER H. - Arch. Int. Pharmacodyn., 1948, 125, 371.

DELGA J., FAULHOUX P. - Pdts et Probl. Pharmaceutiques, 1969, 24, 57.

DESNUELLE P. - Bull. Sté. de Chimie Biol., 1959, 41, 928.

DEWEY W.L., HARRIS L.S., HOWES J.F., KENNEDY J.S., NUITE J.A., HAYHURST V. - Arch. Int. Pharmacodyn. 1969, 182, 471.

DOWNES J.J., KEMP R.A., LAMBERTSEN G.J. - J. Pharmacol., 1967, 158, 416.

DUMARTIN A. - Thèse Doctorat en Pharmacie (Etat). 154 pages. Editions Bergeret, 1967, Bordeaux.

DUNDEE J.W., NICHOLL R.M., MOORE J. - Brit. J. Anaesth., 1961, 33, 565.

ERDÖS E.G., BAART S.P., SHANOR S.P., FOLDES F.F. - Arch. Int. Pharmacodyn., 1958, 117, 163.

EVANS A.O., NASMYTH P.A., STEWART H.C. - Brit. J. Pharmacol., 1952, 7, 542.

FELDBERG W. - J. Physiol., Londres, 1951, 113, 483.

FELDBERG W., PATON W.D.M. - J. Physiol., Londres, 1951, 114, 490.

FENESSY M.R., HEIMANS R.L.H., RAND M.J. - Brit. J. Pharmacol., 1969, 37, 436.

FERREIRA F.D., VANE J.R. - Brit. J. Pharmacol., 1967, 30, 417.

FLEISHER J.H., CORRIGAN J.P., HOWARD J. - Brit. J. Pharmacol., 1960, 15, 23.

FÖLDES F.F., ERDÖS E.G., BAART N., ZWARTZ J., ZSIGMOND E.K. - Arch. Int. Pharmacodyn., 1959, 120, 216.

FOLDMARK S., WRAMNER Th. - Acta Physiol. Scand., 1945, 9, 88.

FROMMEL Ed. - Actualités Pharmacologiques, 1951, 3, 157.

FROMMEL Ed., BECK R., VALETTE F., FAURE M. - Helv. Physiol. Act., 1947, 5, 361.

GADOUM J.H., PICARELLI Z.P. - Brit. J. Pharmacol., 1957, 12, 323.

GARCIA de JALON P.D. - Quart. J. Pharm. and Pharm., 1947, 20, 28.

GARCIA de JALON P.D., WEST G.B. - Nature, 1947, 159, 841.

GARRELOU L., PASCALIS G., THUILLANT L. - Presse Médicale, 1930, 81, 1365.

GLICK D. - J. Gen. Physiol., 1938, 21, 289.

GOLDSTEIN A. - Arch. Biochem. Biophys., 1951, 34, 169.

GRELL F.L., KOONS R.A., DENSON J.S. - Anesthesia and analgesia, U.S.A., 1970, 49, 523.

GYANG E.A., KOSTERLITZ W. - Brit. J. Pharmac., Chemother., 1966, 27, 514.

HARRY J. - Brit. J. Pharmacol., 1963, 20, 399.

HEIN G.E., POWELL K. - Biochem. Pharmacol., 1967, 16, 567.

HESTRIN S. - J. Biol. Chem., 1949, 180, 249.

HOFSTEE B.H.J. - J. Pharm. Exp. Ther., 1960, 128, 299.

HOUSSAY B.A., LEWIS J.T., MOLINELLI E.A. - C.R. Soc. Biol., 1928, 99, 1408.

JACOB J. - Actualités Pharmacologiques, 1954, 7, 127.

JANSSEN P. - Research Laboratorium C. Janssen. Rapport préliminaire, 22 janvier 1962, 1.

JANSSEN P., EDDY N.B. - J. of Med. and Pharmac. Chem. 1960, 2, 31.

JANSSEN P., NIEMEGEERS C.J.E., DONY J.G.H. - Arzneim. Forsch., 1963, 13, 502.

JANSSEN P., NIEMEGEERS C.J.E., KAREL H.C., SCHELLEKENS FRANK J., VERBRUGGEN VAN NUETEN J.M. - Arzneim. Forsch., 1963, 13, 205.

JENSEN-HOLM J., - Acta Pharmacol. et Toxicol. , 1961, 18, 379.

JENSEN-HOLM J., LAUSEN H.H., MILTHERS K., KNUD O. MØLLER - Acta Pharmacol. et Toxicol., 1959, 15, 384.

JOHANNESSON T. - Acta pharmacol. et toxicol., 1962, 19, 23.

JOHANNESSON T. - Acta pharmacol. et toxicol., 1967, 25, supplément 3, 1.

JOHANNESSON T., LAUSEN H.H. - Acta pharmacol. et Toxicol., 1961, 18, 398.

JØRGENSEN K. - Scand. J. Clin. et cah. investigation, 1959, 11, 282.

KAHANE E., LEVY J. - C.R. Soc. biol., 1936, 121, 1596.

KAYSER (Ch.) Physiologie, 2ème Edit. 1969, Ed.méd.Flammarion.

KNOLL J., KOMLOS E. - Acta physiol. hung., 1951, 2, 57.

KOMLOS E., KNOLL J., PORSZASZ J. - Acta physiol. hung. 1950, 1, 77.

KOPERA J., ARMITAGE A.K. - Brit. J. Pharmacol., 1954, 9, 392.

KOSTERLITZ H.N., ROBINSON J.A. - J. Physiol., Londres, 1957, 136, 249.

KOSTERLITZ H.N., ROBINSON J.A. - Brit. J. Pharmacol., 1958, 13, 296.

KOSTERLITZ H.N., ROBINSON J.A., TAYLOR D.N. - J. Physiol., Londres, 1957, 139, 28 P.

KOSTERLITZ H.W., LEES G.M., WATT A.J. - Pharmacological research communications, 1969, 1, 42.

KUFFLER S. W. - Arch. Sci. Physiol., 1949, 3, 58.

KUFFLER S.W., WILLIAMS V.M. - J. Physiol., Londres, 1953, 121, 318.

LAVIKAINEN P., MATTILA M. - Ann. Med. Exper. Biol. Fenn., 1959, 37, 133.

LECANNELIER R.S., BARDISA U.L., TAMAYO R.L. - Bol. Soc. Biol. Concepcion, 1953, 28, 83.

LEVY B. - J. Pharmac. Exp. Ther., 1963, 140, 356.

LEWIS G.P. - Brit. J. Pharmacol., 1960, 15, 425.

LOEWI O., NAVRATIL S. - Arch. f. Physiol. , 1926, 214, 678.

MARTIN W.R. - Strong Analgesic, in Physiological Pharmacology, Ed. by N.S. Root and F.G. Hoffman, 1963, vol. 1, 275, Academie Press N.Y.

MICHEL H.O. - J. Lab. Clin. Med., 1949, 34, 1564.

MORRISON J.D., CLARKE R.S.J., DUNDEE J.W. - Brit. J. Anaesth., 1970, 42, 730.

OTUBO Y. - Japanese J. Anesthesiol., 1959, 8, 235.

PATON W.D.M. - J. Physiol., Londres, 1955, 127, 40 P.

PATON W.D.M. - Brit. J. Pharmacol., 1957, 11, 119.

PFEIFFER C.C., SANTOS MARTINEZ J., SHERROD T.R. - Fed. Proced., 1948, 7, 248.

RIKER W.F. - Pharmacol. Rev., 1953, 5, 1.

ROQUEBERT J., CANELLAS J., DUMARTIN A., SABATHIE M. - Therapie, 1966, 21, 1167.

ROQUEBERT J., CANELLAS J., DUMARTIN A., SABATHIE M. - Arch. int. Pharmacodyn., 1967, 167, 297.

ROQUEBERT J., COURTOIS P., DUMARTIN A., CANELLAS J., SABATHIE M. - Ann. Anesth. Franç., 1968, 9, 321.

ROQUEBERT J., DUMARTIN A., CANELLAS J. - Bull. Soc. Pharm., Bordeaux, 1966, 105, 85.

ROQUEBERT J., LE BARS H., CANELLAS J., SABATHIE M., QUINTARD B., DUMARTIN A. - Bull. Soc. Pharm., Bordeaux, 1964, 103, 193.

RYALL R.W. - Brit. J. Pharmacol., 1956, 11, 339.

SABATHIE M. - Cah. Anesthesiologie, 1964, 12, n° 2, 153.

SCHAUMANN W. - Brit. J. Pharmacol., 1955, 10, 456.

SCHAUMANN W. - Nature, 1956 a, 178, 1121.

SCHAUMANN W. - Arch. Exp. Path. Pharmakol., 1956 b, 229, 432.

SCHAUMANN W. - Brit. J. Pharmacol., 1957, 12, 115.

SCHAUMANN W. - Arch. Exp. Path. Pharmakol., 1959, 237, 229.

SCHUELER F.W., GROSS E.G., HOLLAND H. - J. Am. Pharm. Assoc., 1949, 38, 74.

SCHMITT H. - Elements de Pharmacologie, 4ème Ed., 1970, Ed. médicales Flammarion.

SERTURNER F.W.A. - J. Pharmacie f. Aerzte Apotheker u. Chemisten, 1806, 14, 47.

SHARKAWI M., SCHULMAN M.P. - J. Pharm. Pharmac., 1969, 21, 546.

SLAUGHTER D. - J. Pharmac. Exp. Ther., 1942, 6, 159.

SLAUGHTER D., GROSS E.G. - J. Pharmac. exp. Ther., 1939, 68, 96.

SLAUGHTER D., LACKEY R.W. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1940, 45, 8.

SLAUGHTER D., MUNSELL D.W. - J. Pharmac. Exp. Ther., 1953, 108, 336.

STEDMAN Ed. STEDMAN El., EASSON L. - Biochem. J., 1932, 26, 2056.

STRAUSS O.H., GOLDSTEIN A. - J. Gen. Physiol., 1942, 26, 559.

SU C., LEE C.Y. - Brit. J. Pharmacol., 1960, 15, 88.

TAMELIN L.E., STRINDBERG B. - Acta chem. Scand., 1952, 6, 1041.

TANAKA K., LIN Y. - Jap. J. Pharmac., 1969, 19, 510.

TODRICK A. - Brit. J. Pharmacol., 1954, 9, 76.

TRENDELENBURG P. - Arch. Exp. Path. Pharmakol., 1917, 81, 55.

TRUHAUT R., VERNIN M. - Ann. Biol. Clin., 1964, 22, 419.

UDSIN V.R., SU-CHEN-SU, UDSIN E. - Proc. of the Soc. for Exp. Biol., 1961, 108, 457.

URBANEK B., PIETRUSZEWSKA - Activ. New. sup. Tcheco., 1966, 8, 424.

VINDENT D., SEGONZAC G., PRAT J. (de) - C.R. Soc. Biol., 1942, 136, 821.

VOURC'H G. - M.E. J. Anaesth., 1966, 1, 51.

VOURC'H G., CASTRO J. (de), GAUTHIER LAFAYE P. , GIUDICELLI J.F., VIARS P. - Les analgésiques et la douleur, Paris 1971, Ed. Masson et Cie.

VOGT M. - J. Physiol., Londres, 1954, 123, 451.

WEBER B., LABORIT H. - Aggressologie, 1968, 9, 437.

WISLICKI L. - Arch. int. Pharmacodyn., 1958, 115, 52.

WRIGHT Ch. I. - J. Pharmac. exp. Ther., 1941, 72, 45.

WRIGHT Ch. I. , SABINE J.C. - J. Pharmac. exp. Ther. 1943, 78, 375.

YOUNG D.C., VAN DER PLOEG R.A., FEATHERSTONE R.M., GROSS E.G. - J. Pharmac. exp. Ther., 1955, 114, 33.

*

EDITIONS BERGERET-2,rue Bergeret-BORDEAUX. Tél. 91.12.59